LE BOTANISTE

Fondé par P.-A. DANGEARD

Directeur : Pierre DANGEARD

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

SÉRIE XXXII

Fascicules I-VI

1943-1947

SOMMAIRE



Direction : 20, cours Pasteur, Bordeaux

Chèque postal : 131.842 Bordeaux

LE BOTANISTE

—

Série XXXII

—

1943

La mitose hétérotypique des Orchidées

par Mme PANCA EFTIMIU-HEIM

INTRODUCTION

Dans un premier Mémoire sur les noyaux végétatifs des racines d'Orchidées, nous avons démontré que la diversité dans l'aspect réticulé du noyau quiescent était due surtout à sa chromaticité. Ainsi, dans les noyaux riches en chromatine, le réseau est puissant et possède des chromocentres plus ou moins réguliers, plus ou moins volumineux. Dans les noyaux pauvres en chromatine, le réseau est léger ou peu distinct, les chromocentres sous forme de granules de diverses tailles sont disposés surtout à la périphérie du noyau.

Nous avons suivi, en même temps, l'évolution chromosomique et nous avons vu que les filaments chromatiques se forment, au début de la prophase, aux dépens du réseau nucléaire, par l'apparition de certaines lignes sinueuses et par l'effacement des anastomoses. Ce processus se réalise de la même façon aussi bien dans les noyaux à réseau net que dans ceux à réseau faiblement coloré ou presque absent. Dans les premiers noyaux, les filaments chromatiques donnent des chromosomes longs, épais et peu nombreux tandis que dans les seconds, les chromosomes définitifs sous forme de courts bâtonnets sont en nombre très élevé.

Nous avons examiné, dans le présent travail, la formation des chromosomes hétérotypiques en suivant les étapes qui relient le stade à filaments minces au stade à filaments doubles, ensuite la formation des couples ou *gemini* ainsi que le partage chromosomique lors de la prophase.

Notre attention s'est spécialement portée sur la prophase

des noyaux à chromosomes courts. Dans ces derniers, la disposition périphérique des chromocentres granuleux donne au noyau un aspect semblable à celui des noyaux à prochromosomes. Nous avons voulu nous rendre compte de quelle manière se forment les filaments minces au début de la prophase méiotique ainsi que leur conjugaison et savoir s'il y a un rapport avec les phénomènes dont les noyaux à prochromosomes sont le siège. On sait que pour ces derniers, Rosenberg chez *Drosera* et Darling chez *Acer* ont décrit un rapprochement par couples de granules chromatiques qui figurent dans le réseau peu colorable. Ces couples ou corps jumelés s'accroissent et donnent au début de la prophase les filaments minces appariés.

Pour Strasburger qui a été le premier à décrire ce stade, les granules chromatiques quittent le réseau plus ou moins apparent pour se grouper en amas ou *gamosomes* qui s'associent deux par deux en formations doubles ou *zygosomes*. Ces formations zygosomiques cèdent la place à un système de filaments minces d'abord, associés par deux ensuite.

Mais ce ne sont pas là les seules raisons qui se soient imposées dans l'étude de la cinèse de maturation chez les Orchidées. D'autres questions se posent également. On croirait en jetant un coup d'œil sur l'immense bibliographie consacrée par les auteurs, généticiens et cytologistes, à la mitose hétérotypique, aussi bien dans la cellule animale que dans la cellule végétale, que l'interprétation de divers aspects est définitivement acquise. Cependant, nombreux sont les chercheurs qui discutent encore comment s'opère la *syndèse* qui donne naissance aux gemini diacinétiques.

Aux partisans de la *parasyndèse*, et ceux-ci représentent la majorité, s'opposent les partisans de la *métasyndèse*. Pour les premiers, les filaments doubles du cordon pachytène ou *spirème* proviennent du rapprochement parallèle de deux filaments chromosomiques distincts. Pour les derniers, la dualité du spirème serait due à un clivage longitudinal ; le

spirème, mince au début, s'épaissit, et subit un repliement en un certain nombre d'anses ou boucles qui s'isolent du filament par des coupures transversales.

Nous n'allons pas insister davantage sur ces diverses controverses. Pour s'en rendre compte, le lecteur n'a qu'à consulter les travaux de Grégoire d'abord, ensuite ceux des auteurs plus récents qui donnent une excellente et riche mise au point des recherches entreprises sur cet intéressant sujet.

Revenons aux Orchidées. Chez *Listera ovata*, tout récemment encore P. Staner se pose la question de savoir si la première mitose hétérotypique sépare des chromosomes conjugués conformément au schéma hétérohoméotypique de Grégoire ou bien dissocie des moitiés longitudinales, des gemini-filles, selon l'interprétation de Dixon. Y a-t-il préréduction ou postréduction ? L'auteur ne peut pas émettre un avis définitif. Certains aspects des chromosomes le font incliner pour la préréduction, c'est-à-dire pour la séparation des chromosomes conjugués vers les deux pôles à la métaphase et à l'anaphase de la première cinèse de maturation ; d'autres figures, et ces dernières sont plus nombreuses, le font pencher vers la deuxième solution, vers l'interprétation postréductionnelle.

En effet, selon cet auteur, les deux branches qui apparaissent très indépendantes pendant la prophase II doivent être considérées non comme des moitiés longitudinales d'un même chromosome mais plutôt comme des chromosomes associés. Il reconnaît que pour trancher la valeur de la première cinèse de maturation il faudrait observer ce qui se passe dans les formations métaphasiques au moment où elles entrent en anaphase.

L'auteur n'a jamais trouvé les figures anaphasiques classiques décrites dans d'autres objets, en V et en V doubles, qui témoignent de la séparation des chromosomes-fils, il n'a pas vu non plus le clivage longitudinal qui apparaît dans chaque chromosome méta- ou anaphasique. Au contraire,

les chromosomes demeurent indivis jusqu'à la fin de l'anaphase.

Pendant l'interphase seulement, les chromosomes subissent une modification importante qui aboutit à la formation de deux branches indépendantes disposées en forme de croix ou de V.

Malgré les nombreuses figures examinées et vu la grande difficulté d'interprétation, l'auteur se demande si les aspects métaphasiques ne seraient pas endommagés ou voilés par les techniques de fixation et de coloration. Il se demande aussi si les gemini ne subiraient pas à la métaphase une telle concentration de leur substance que leur composition les rendrait indéchiffrables.

Nous allons voir au cours de ce travail que si pour les Orchidées nous adoptons l'interprétation hétérohoméotypique, la séparation de deux branches composantes d'un gemini, la disposition de ces gemini au moment de la formation du fuseau ainsi que l'apparition des chromosomes en V ou en croix, offrent certains aspects qui rendent l'interprétation assez difficile à la première observation. En même temps, on comprendra pourquoi les auteurs qui ont étudié la méiose chez *Listera ovata* n'ont pas donné une explication définitive aux figures de la deuxième prophase réductionnelle et pourquoi les images métaphasiques et anaphasiques de la première cinèse semblent embrouillées et peu démonstratives.

Nous allons voir également que l'indépendance des branches chromosomiques qui apparaît de plus en plus nette pendant la prophase II ne peut s'expliquer qu'en suivant attentivement l'évolution chromosomique à partir des noyaux intercinétiques.

On reconnaît généralement que jusqu'à présent c'est la prophase I qui a attiré longuement l'attention des chercheurs. Comme nous venons de le dire, les travaux à ce sujet sont considérables. Pour la métaphase et les stades suivants, les publications sont bien moins nombreuses et

les auteurs ne donnent le plus souvent que peu de détails. Ainsi, le champ de comparaison avec d'autres objets est plus restreint.

Nous avons entrepris ces recherches sur de nombreuses espèces, mais malheureusement on ne peut que difficilement obtenir des échantillons montrant tous les stades. Ainsi, pour les Orchidées épiphytes, la rareté des fleurs nous a obligé, afin d'obtenir la série complète de l'évolution chromosomique, de nous aider à la fois des figures prophasiques de *Cattleya labiata* et d'*Oncidium excavatum* ; pour la métaphase et l'anaphase ainsi que pour la deuxième cinèse, les figures ont été empruntées à l'*Epidendrum anceps.* Dans ces dernières, les observations ont été faites sur les noyaux des sacs polliniques.

La méiose a été complètement suivie dans la cellule-mère du sac embryonnaire de *Neottia nidus-avis*, *Listera ovata*, *Cypripedium insigne*, *Nigritella nigra* et dans les sacs polliniques de l'*Epipactis latifolia*, *Goodyera repens* et diverses Ophrydées comme *Aceras antropophora*, *Loroglossum hircinum*, *Ophrys muscifera* et *O. aranifera.*

Parmi les *Orchis* nous avons examiné spécialement : *Orchis militaris*, *O. latifolia*, *O. maculata.*

Pour les Ophrydées, la grande similitude qui existe entre les espèces nous a permis d'utiliser indifféremment certains aspects dans la description de la méiose.

Enfin, dans *Cephalanthera grandiflora*, *Epipogon aphyllum*, *Herminium monorchis*, *Gymnadenia conopea*, *Platanthera bifolia* et *Orchis globosa* les ovules étant très jeunes nous n'avons obtenu que le début de la prophase.

Nous croyons inutile de revenir sur les méthodes techniques employées, celles-ci ayant été déjà exposées dans notre premier Mémoire. Nous n'ajouterons à celles-ci que l'excellente méthode de coloration au Iode-violet de gentiane après fixation au Nawaschin. Les détails obtenus de cette manière sont véritablement d'une netteté remarquable.

Avant d'exposer les résultats de nos observations, nous tenons à remercier vivement M. le Professeur G. Mangenot pour les précieux encouragements qu'il a bien voulu nous apporter au cours de ces recherches que nous avons effectuées dans le Laboratoire qu'il dirige.

L'expression de notre gratitude va également à M. C. Guinet, chef de l'Ecole de Botanique du Muséum national d'Histoire naturelle, qui a recueilli et fixé à notre intention divers échantillons d'Orchidées dans les Alpes de Savoie.

ÉTUDE DES ESPÈCES

PREMIÈRE PARTIE

La méiose dans la cellule-mère du sac embryonnaire.

Nous avons étudié la méiose complète dans les cellules-mères des sacs embryonnaires de *Neottia nidus-avis*, *Listera ovata* et *Cypripedium insigne*.

Pour éviter les répétitions nous rapporterons la description entière sur *Neottia nidus-avis*. Les deux autres espèces ne seront abordées qu'à titre de comparaison tout en mettant en évidence les faits les plus saillants s'il y a lieu.

Nous commencerons l'étude de la mitose hétérotypique par l'examen du noyau de la cellule-mère du sac embryonnaire de *Neottia nidus-avis*.

Cette espèce se prête admirablement à cette étude, d'une part en raison de la grande taille du noyau, et, de l'autre, par suite des nombreuses figures obtenues dans le même ovaire, ce qui nous a permis de suivre l'échelonnement des stades, pas à pas.

Vermoesen, qui a étudié la formation de l'ovule dans plusieurs Orchidées, a établi que la cellule-mère définitive du sac embryonnaire représente la cellule terminale, sous-épidermique, d'une file interne de cellules. Cette cellule et surtout son noyau augmentent considérablement de vo-

lume ; les deux cellules sous-jacentes représentent le nucelle, qui est très réduit chez les Orchidées, tandis que les cellules suivantes, en file, constitueront le funicule.

Pour Dumée, qui a également examiné les jeunes ovules des Orchidées, la position sous-épidermique de la cellule-mère du sac embryonnaire ne serait qu'apparente et, en réalité, n'occuperait que l'extrémité supérieure de la série axiale, de sorte que la file serait ouverte au sommet et non fermée par la gaine épidermique comme Vermoesen le soutient.

Nos observations, qui ont porté sur un grand nombre d'ovules, nous autorisent à confirmer pleinement la description de Vermoesen.

Il semble d'ailleurs que ce développement représenterait le cas général dans les Orchidées, exception faite de l'*Oncidium* où la cellule-mère du sac embryonnaire serait d'origine épidermique.

Bien que nous n'ayons disposé que d'un nombre restreint d'ovules, il nous semble cependant que, dans *Oncidium excavatum* et *O. luridum*, l'origine de la cellule-mère est la même que chez les autres Orchidées.

La Fig. 1, Pl. I, montre une coupe effectuée dans la cellule-mère du sac embryonnaire chez un jeune ovule. Cette cellule est beaucoup plus développée que les autres et offre un noyau plus volumineux que dans les cellules voisines. Ce dernier possède à l'état quiescent une structure nettement réticulée telle que nous l'avons déjà décrite dans un travail précédent. Sur le réseau assez régulier figurent quelques chromocentres arrondis ou peu allongés. Le nucléole se trouve placé latéralement et la membrane nucléaire apparaît très nette. Chez *Cypripedium* le réseau très marqué porte, à part quelques chromocentres, de nombreuses nodosités qui correspondent aux points de croisement des filaments.

Le nucléoplasme est coloré en gris clair par l'hématoxyline ferrique et en rose violacé par la méthode de Feulgen.

Le violet de gentiane colore admirablement la chromatine nucléaire ainsi que le nucléole ; par contre, ce dernier demeure insensible au réactif de Schiff.

Première division.

Prophase. — La prophase, de très longue durée, comprend plusieurs stades qui caractérisent nettement la mitose hétérotypique. Nous en analyserons les diverses étapes, y ajoutant, lorsqu'elles s'imposent, des remarques essentielles.

Leptonema. — Dès que le moment de la mitose approche, le volume du noyau augmente et le réseau change d'aspect.

En effet, le premier mouvement vers la méiose se traduit par la transformation du réseau nucléaire en filaments longs et onduleux qui s'individualisent progressivement. Cette transformation se réalise aux dépens du réseau et des chromocentres qui s'incorporent dans la substance des filaments de la même façon que lors de la prophase somatique. Cependant, l'aspect des filaments du noyau hétérotypique diffère de celui des filaments d'une prophase végétative où ils se présentent surtout zigzagants et spiralés.

Lorsque les dernières anastomoses disparaissent, la cavité nucléaire est remplie uniformément de ces filaments leptotènes minces, moniliformes et presque entièrement colorés. La Fig. 2, Pl. I, montre la concentration de la chromatine suivant certaines lignes ; on distingue encore les chromocentres. Quand le volume du noyau augmente, on constate un déploiement des filaments chromatiques dans la cavité nucléaire. Ces filaments s'étant étirés, il devient plus facile de les examiner sur une très grande longueur. On voit alors qu'ils présentent des parties plus denses ayant forme de granules alternant avec des parties plus pâles (Fig. 2, 3, 4, Pl. I).

Beaucoup d'auteurs, qui ont décrit ces granules dans d'autres objets, les considèrent comme des corpuscules autonomes. Pour certains d'entre eux (Miss Sargant) les filaments seraient constitués d'une bande *lininienne* achromatique supportant une rangée de disques ou granules *nucléiniens* qui, seuls, se colorent. Ces granules ou *chromomères* impriment au filament l'aspect perlé caractéristique. Nous reviendrons dans un instant sur la valeur de ces formations.

Zygonema. — C'est à ce stade d'éléments grêles et flexueux qu'on observe l'appariement des filaments deux par deux. Les Fig. 4 et 5, Pl. I, montrent des noyaux zygotènes caractérisés par un mélange de rubans minces disposés parallèlement sur un ou deux endroits de leur trajet et de cordons plus épais. On voit à côté des filaments étroitement appliqués sur une longueur plus ou moins grande, d'autres filaments entrelacés, rapprochés intimement sur un certain parcours et se séparant ensuite dans des directions divergentes. Tous ces éléments qui s'accolent deux par deux sont des chromosomes isolés, entiers, leurs extrémités libres ne sont pas dues au rasoir, car, lorsqu'on tourne la vis micrométrique, on en trouve encore des bouts libres dans la profondeur du noyau.

Le parallélisme des éléments conjugués s'accentue de plus en plus jusqu'au stade suivant où le rapprochement devenant complet, le noyau apparaît rempli de cordons doubles.

Pachynema. — La Fig. 6, Pl. I, montre les cordons pachytènes dans un noyau plus coloré encore que dans les stades précédents.

Les filaments sont disposés avec une remarquable régularité. Les contours se dessinent nettement. Ce stade semble de longue durée si l'on juge par le très grand nombre de figures dans un même ovaire.

Aujourd'hui, presque tous les cytologistes sont d'accord

pour voir dans le spirème l'appariement plus ou moins intime des filaments leptotènes.

Les filaments accouplés apparaissent souvent tellement rapprochés qu'ils semblent indivis. Cependant, leur dualité est relevée par les granules chromatiques qui donnent au filament l'aspect d'une double file de chromomères.

On connaît l'importance qui a été donnée à ces formations chromomériques.

Pour STRASBURGER qui a établi l'autonomie des chromomères ou ides (WEISMANN) ces granules de nature lininienne incluraient des corpuscules correspondant à des unités morphologiques.

ALLEN dans la même année s'associe aux vues de STRASBURGER et décrit le spirème comme constitué d'une file de disques chromatiques qui donnent l'aspect perlé caractéristique. Ce cytologiste attribue aux chromomères appariés une origine paternelle et maternelle, et leur accolement serait une soudure réelle qui aurait la propriété de mélanger les caractères dont ces chromomères sont les porteurs. L'accolement se réalise de façon à mettre l'un en face de l'autre les granules portés par les filaments associés. Quant à leur origine, le même auteur pense que la chromatine nucléaire quitterait les masses chromatiques reliées par des tractus dans le noyau quiescent et se disposerait en granules sur le substratum des filaments. Au fur et à mesure que le nombre de granules s'accroît, la masse chromatique se réduit. De même, GRÉGOIRE avait supposé que ces éléments auxquels il n'attribuait aucun caractère d'unité morphologique, résulteraient de la substance chromatique qui imprègne primitivement le réseau et s'accumule ensuite en d'autres régions sous forme de gouttelettes.

Les auteurs modernes croient qu'il s'agirait plutôt de la traduction optique d'un parcours finement onduleux et zigzagant ou même comme des points de croisement entre les filaments.

MAC MAHON chez *Listera ovata* n'attache aux chromo-

mères aucun caractère structural et les considère comme des coudes successifs de filaments spiralés. Mais, malgré les nombreuses figures données par cet auteur pour soutenir son point de vue relatif aux chromomères, nous pouvons affirmer que chez *Listera* comme chez *Neottia*, à part l'effet optique des coudes, la présence de ces granules ne fait aucun doute. En effet, les noyaux de *Listera*, en raison de leur grande taille, sont très faciles à étudier et constituent un objet particulièrement privilégié pour l'étude de ces granules (Fig. 1, 2, Pl. II).

Chez *Cypripedium* de même, la structure granulaire des filaments leptotènes et pachytènes est très marquée.

La Néottie constitue un bel exemple à chromomères nettement visibles et bien différents des coudes que le filament décrit dans son parcours. Ils apparaissent avec grande netteté aussi bien dans les préparations que nous tenons comme les meilleures que dans celles plus décolorées. Ce ne sont pas par conséquent des aspects de surdécoloration, comme certains auteurs l'ont soutenu pour d'autres objets. On peut facilement les distinguer dans la coloration par l'hématoxyline ferrique où l'on voit un substratum plus clair, grisâtre, supportant de place en place des régions fortement colorées. Le violet de gentiane les colore aussi intensément. Traités par la méthode de Feulgen, les filaments se montrent sensibles uniquement sur ces parties épaissies.

Un examen minutieux nous a permis de constater que ces chromomères ne représenteraient en réalité qu'une condensation inégale de la chromatine sous forme de grains ou tractus qui semblent faire corps avec le substratum, car lorsqu'on examine les filaments on constate qu'ils présentent leurs extrémités effilées et se continuant avec le granule voisin. Quelquefois ces condensations semblent se détacher du reste et apparaissent alors sous forme de grains isolés. On peut facilement observer ces granules allongés vers les extrémités et se continuant avec le subs-

tratum faiblement coloré, tel que Grégoire l'a déjà décrit dans d'autres objets.

Dans la Fig. 6, Pl. I, on voit dans un noyau pachytène les filaments associés tellement rapprochés qu'ils semblent fusionnés. En réalité, le cordon demeure double tout le temps et les granules se montrent sur deux rangées. Nous n'avons jamais observé une rangée unique. Au contraire, nous avons pu constater qu'il n'existe pas toujours une correspondance entre les parties chromatiques et il arrive qu'une certaine portion du filament soit dépourvue de correspondant chromomérique sur le filament voisin (Fig. 8, Pl. I).

La structure granulaire est également visible dans les bandes chromosomiques des noyaux végétatifs. Nous avons déjà eu l'occasion de dire quelques mots sur l'aspect granulaire de ces derniers. Mais nous n'avons pas insisté alors sur ce détail important. Nous pensions y revenir plus tard. En reprenant les observations sur les noyaux des méristèmes radiculaires de *Neottia* nous avons pu facilement distinguer cette structure, surtout dans les longs rubans prophasiques qui se clivent. La Fig. 9, Pl. I, montre deux chromosomes dans les noyaux d'une jeune racine.

On remarque sur les moitiés longitudinales, avant et après le clivage, des granules nets qui se distinguent, par ailleurs, des coudes dus aux plissements des filaments et qui disparaissent dès qu'on manie la vis micrométrique.

Il est évident que dans les noyaux somatiques, les rubans étant plus courts et plus épais par rapport aux filaments leptotènes très fins et extrêmement allongés, la chromatine est plus dense, plus concentrée de sorte qu'il est difficile de distinguer la série granulaire dans chaque chromosome.

Le pachynema représente l'étape la plus longue de la prophase et les cordons pachytènes montrent une certaine activité si l'on en juge aux divers aspects qu'ils impriment au noyau à ce stade. Ainsi, ces filaments subissent à un moment donné une contraction qui ramène tous les cordons

d'un côté de la cavité nucléaire en un peloton qui englobe ou non le nucléole toujours présent à ce stade.

Cette contraction ou *synizezis* est suivie d'un déploiement, d'un déroulement des cordons qui s'accentue progressivement de sorte que la cavité nucléaire devient sillonnée dans toutes les directions par les filaments pachytènes. Dans d'autres noyaux au contraire, les filaments éprouvent un travail d'orientation parallèle et un repliement en anses ayant les extrémités libres dirigées vers un même pôle du noyau comme la Fig. 7, Pl. I, le démontre.

La Fig. 1, Pl. III, montre une image d'une clarté schématique. On arrive facilement à compter 18 cordons pachytènes, nombre qui correspond à la moitié de celui des chromosomes végétatifs chez *Neottia*.

Le synizezis ou *synapsis* des anciens auteurs n'est pas spécifique du stade pachytène. Les filaments chromatiques peuvent subir cette contraction lors de leur dégagement du réseau dans le noyau leptotène et même zygotène. Pendant cette contraction, la chromatine nucléaire forme une sorte de peloton ayant tendance à se porter vers un pôle du noyau.

Dans *Neottia*, *Listera*, *Cypripedium*, l'amas synaptique ne se présente jamais sous forme de grumeaux compacts comme il a été décrit dans nombre de plantes. Au contraire, il est peu accentué de sorte qu'on peut facilement suivre certains filaments sur un long parcours au milieu de ce peloton (Fig. 3, Pl. I).

C'est au stade de synizezis que les anciens auteurs fixaient le rapprochement par paires des chromosomes. Nombreuses ont été également les publications traitant de ce sujet. Cependant, beaucoup d'auteurs le mettent en doute et considèrent cet aspect synaptique comme un artefact dû aux réactifs. Ainsi, pour *Listera*, Mac Mahon considère que le synizezis est plus ou moins accentué selon la qualité de fixation. Nos observations sur le synizezis, dans les espèces citées, confirment la remarque de ce der-

nier auteur. En effet, la contraction synaptique est peu accentuée dans les préparations considérées comme meilleures, et plus apparente si la fixation est moins bonne.

Stade diplotène. A ce stade, les deux filaments primitivement accouplés et étroitement serrés dans le noyau pachytène se disjoignent. La Fig. 10, Pl. I, montre un noyau diplotène où l'on voit un mélange de cordons encore doubles et de filaments moins épais, entrelacés ou parallèles et montrant quelquefois des écartements notables. Cependant, presque toujours les deux cordons se trouvent attachés, au moins à l'une des extrémités. Cette disjonction ou « dédoublement longitudinal » de Grégoire était considéré par certains auteurs comme un clivage longitudinal identique à celui des filaments prophasiques d'une division ordinaire.

Aujourd'hui, presque tous les chercheurs sont d'accord pour voir dans les noyaux diplotènes ou strepsitènes la réapparition de deux filaments zygotènes du début de la prophase méiotique.

Le phénomène de disjonction coïncide avec le raccourcissement et l'épaississement de deux branches conjuguées qui aboutissent finalement à la formation des chromosomes définitifs. Au fur et à mesure que s'effectue la condensation de la chromatine, les cordons composants s'écartent et leur aspect change de plus en plus. On peut d'ailleurs suivre dans quelques figures les stades successifs de cette condensation (Fig. 10, 11, 12, Pl. I ; 5, 6, Pl. II). Pendant que les cordons se plissent, les granules, de moins en moins apparents, font place à des traits plus longs qui semblent se fusionner en un filament continu et spiralé imprimant au cordon raccourci un contour irrégulier comme dans les figures précédentes. De son côté, chez *Listera*, Mac Mahon pense que l'aspect rugueux des branches serait dû à leur spiralisation. La formation des spirales provoquerait le rétrécissement, le raccourcissement des filaments.

Pour cet auteur, les spirales demeureraient visibles jus-

qu'à la diacinèse, ensuite leur présence serait oblitérée quelque temps et ils redeviennent visibles pendant la prophase de la deuxième division. Divers auteurs et surtout Farmer et Moore attribuaient à ce stade, qui est l'ancien strepsinema, la segmentation transversale du spirème continu en un nombre réduit de chromosomes. Ces segments ou tronçons se courberaient ensuite en anses qui rapprochent leurs branches, s'entrecroisent ou restent parallèles.

C'est au même stade que Janssen attribua le transfert de gènes ou de groupes de gènes, selon l'Ecole de Morgan, et ceci, au moment où se produit l'enjambement d'un chromosome sur l'autre. Par ce phénomène ou chiasma, les gènes de chromosomes adhérents ou soudés arriveraient à s'amputer mutuellement. Mais nous n'allons pas insister sur ces faits. Le comportement des chiasmas a été admirablement décrit dans les moindres détails par Darlington et il semble aujourd'hui que les notions relatives aux chiasmas sont des faits bien établis.

Revenons aux Orchidées. Les Fig. 10 et 11, Pl. I, montrent deux stades successifs de filaments chromosomiques vers la fin de la prophase. On peut comparer dès ce moment la taille inégale des chromosomes.

A côté de segments plus ou moins gros, on en trouve trois dont un particulièrement développé déjà signalé par Modilewsky et que nous avons reconnu dans les mitoses ordinaires comme le montre la Fig. 16, Pl. I, tirée d'un noyau végétatif, en anaphase.

Diacinèse. — On retrouve dans un noyau diacinétique les mêmes éléments à branches parallèles, entrecroisées ou entrelacées dans un ou deux tours de spire, en V, en anneau ou en forme de double bâtonnet. D'ailleurs, ces formes semblent assez générales pour les couples diacinétiques ou gemini, aussi bien chez les plantes que chez les animaux.

Vu la condensation chromatique qui devient plus intense, les gemini apparaissent plus courts, plus épais, mais leur

contour demeure encore irrégulier, moins net. On observe parfois, sur les bords, des prolongements très fins qui correspondent probablement aux vestiges d'anastomoses déchirées.

Lorsqu'à la fin de la prophase, le noyau atteint la plus grande dimension, le volume initial étant doublé, les chromosomes arrivent également à leur maximum de condensation qui se manifeste par le fait que leur volume est beaucoup plus réduit ; ils apparaissent homogènes sur toute leur étendue et se colorent uniformément sur toute leur surface. Leur taille varie toujours, certains d'entre eux sont plus longs et plus épais que leurs voisins (Fig. 14, Pl. I ; 10, Pl. II). Nous avons figuré de nombreux aspects de gemini définitifs. En Fig. 15, Pl. I, on constate la diversité dans l'attachement de leurs branches chromosomiques.

Chez *Listera*, la plupart des gemini sont arqués et se regardent par leur côté concave (Fig. 9, Pl. II). Staner a observé que les deux chromosomes appariés sont rattachés l'un à l'autre, à leurs deux extrémités, par deux filaments ce qui indiquerait déjà une dualité dans chacune des branches d'un geminі. Il a observé également une sorte de bifurcation à l'une de leurs extrémités. Nous avons cherché à retrouver cette intéressante indication, mais nous n'avons toujours trouvé qu'un trait unique qui relie les branches d'un gemini à une extrémité ou même aux deux bouts.

Chez *Cypripedium*, les gemini sont épais et les deux segments sont intimement liés à une des extrémités par des tractus très courts en général (Fig. 28, Pl. III).

Sous cet aspect homogène, les chromosomes définitifs entrent dans le stade suivant qui se caractérise par la séparation des branches accouplées.

Métaphase. — Si, jusqu'à ce stade, les diverses étapes de la prophase se sont déroulées suivant le schéma décrit dans d'autres objets, par contre, le début de la métaphase

présente certains caractères qui rendent l'interprétation assez difficile au début de l'examen.

Examinons les Fig. 11, 12, Pl. II ; 6 à 10 et 27, Pl. III. A première vue, celles-ci ne semblent guère démonstratives.

Une analyse attentive fait découvrir, au moment où s'ébauchent les fibres fusoriales, une disposition spéciale des chromosomes. Ceux-ci apparaissent rattachés les uns aux autres, bout à bout, par un fin tractus, formant une ou deux files fermées ou ouvertes. Chez *Neottia* et chez *Listera* il se forme également plusieurs anneaux souvent enlacés l'un dans l'autre. La Fig. 15, Pl. III, représente un noyau particulièrement intéressant dans *Listera*. On distingue trois anneaux enlacés dont un est composé de deux couples et les deux autres ne représentent chacun qu'un gemini à branches écartées. Dans les figures voisines, de 16 à 20, nous avons reproduit divers aspects de gemini dans *Listera*. On remarque la diversité dans la disposition des deux chromosomes dans chaque paire.

Chez les Orchidées, cette disposition en file ne représenterait qu'un aspect passager du mouvement que les chromosomes effectuent pour s'orienter et occuper finalement la région centrale du fuseau. Quant aux filaments d'union, ils ne représentent, croyons-nous, que des anastomoses qui ont persisté dès la différenciation des chromosomes aux dépens du réseau.

Ces tractus sont visibles également dans les noyaux diplotènes, mais ils sont très fins et achromatiques. On les distingue parfois nettement rattachant un cordon à l'autre, surtout après une longue habitude de l'œil. A la fin de la prophase, lorsque les chromosomes sont entièrement colorés, les anastomoses deviennent également plus chromatiques et par conséquent plus visibles.

Nous avons déjà signalé, dans un travail antérieur, la présence de tractus qui relient entre eux les chromosomes, à la fin de la prophase dans les divisions ordinaires des

méristèmes radiculaires, surtout chez *Cypripedium*. Nous avons suivi l'origine de ces filaments ; nous avons vu que leur présence est évidente dès les stades les plus jeunes de la prophase et qu'ils se maintiennent jusqu'à la métaphase et même parfois en anaphase.

Lorsque la forme du fuseau se dessine davantage, la file de chromosomes subit une dislocation, une rupture des anastomoses entre les groupes chromosomiques qui se trouvent ensuite éparpillés sur les fibres fusoriales. A ce moment, on ne discerne plus de membrane nucléaire ; le nucléole disparaît également et le fuseau devient de plus en plus net et montre une orientation bipolaire. Bientôt les chromosomes se ramassent dans la région équatoriale. A ce stade on peut encore suivre, quoique libérés de leurs anastomoses, les chromosomes gardant une certaine orientation en file. On les voit parfois contournés en tous sens sur les fibres fusoriales ou même autour de la zone centrale.

Il est évident qu'avant la figure métaphasique, les chromosomes, tassés d'abord les uns sur les autres, réalisent des mouvements qui placent les gemini d'abord en niveaux différents, ensuite plus aisément, côte à côte (Fig. 17, Pl. 1).

Tous ces aspects que nous venons d'emprunter aux noyaux prémétaphasiques démontrent que les phénomènes qui précèdent et préparent la mise des chromosomes à la plaque équatoriale sont, dans nos objets, très irréguliers et caractéristiques. En adoptant ainsi cette interprétation, nous comprenons l'embarras dans lequel se sont trouvés nos devanciers quand il s'est agi de donner une solution explicative à certains aspects du noyau de *Listera* au moment où s'organise le mouvement métaphasique.

On sait que la question de l'insertion de deux branches par rapport au plan équatorial a été également un des sujets les plus discutés. Aujourd'hui tous les cytologistes admettent l'insertion *en superposition* (Grégoire), c'est-à-dire que les deux branches du chromosome sont orientées

chacune vers un pôle, de sorte qu'en se séparant elles libèrent les chromosomes-fils.

La théorie de la *juxtaposition* (Dixon), selon laquelle les deux branches juxtaposées dans le plan équatorial séparent des moitiés longitudinales appartenant chacune à un gemini, est de plus en plus abandonnée.

Chez *Neottia* et les autres Orchidées, étant donné certains aspects on peut supposer que la plupart des branches s'attachent par un de leurs bouts lorsque les gemini sont unis en bâtonnets doubles, et vers leur milieu dans les chromosomes unis à chaque extrémité en un anneau. Les Fig. 13, 14, Pl. II ; 4, 5, Pl. III, montrent divers aspects d'arrangement des chromosomes sur les fibres du fuseau à la plaque équatoriale. D'une manière ou de l'autre, les chromosomes s'installent sur le fuseau de façon à s'orienter de part et d'autre du plan équatorial et pouvoir glisser et se tourner l'un d'un côté, l'autre du côté opposé.

Anaphase. — Selon l'exemple classique sur les cinèses polliniques de *Lilium*, généralisé ensuite à d'autres objets, les branches des gemini, superposées à la plaque équatoriale, se séparent et gagnent chacune un pôle opposé. Pendant leur ascension, il apparaît dans chaque chromosome isolé une fente, un clivage longitudinal qui sépare, pendant la deuxième prophase, les chrosomes-fils de la seconde cinèse.

Pour certains auteurs le clivage achevé ne ferait que mettre en liberté non des moitiés issues d'un même chromosome, mais des chromosomes unis dès le début.

Parmi les auteurs modernes règne encore cette incertitude; les chromosomes en croix ou en V, qui caractérisent la prophase II, sont-ils les chromosomes-fils de la première cinèse, c'est-à-dire représentent-ils deux éléments de même nature, provenant du clivage longitudinal d'un même chromosome au cours de la mitose hétérotypique, ou bien au contraire deux éléments d'origine différente qui ne sont

que les moitiés longitudinales de deux chromosomes distincts associés lors de la prophase hétérotypique ?

Chez *Neottia*, *Listera* et *Cypripedium*, malgré le très grand nombre de figures examinées à ce stade, nous n'avons observé aucune fente, aucun indice de clivage.

Pendant leur ascension aux pôles, les chromosomes constitutifs conservent intacte leur forme ainsi que leur structure homogène. Dans de très rares exemples, nous avons supposé une dualité dans les chromosomes, manifestée par une concentration de la chromatine vers les extrémités latérales. Dans la Fig. 18, Pl. I, la substance chromatophile apparaît disposée en deux lignes sur les bords du chromosome ce qui fait que ces régions se colorent plus intensément.

A l'anaphase, les branches composantes métaphasiques s'écartent les unes des autres, les tractus d'union sont plus longs, et s'étirent jusqu'à se briser. Lorsque la séparation ou dissociation anaphasique est accomplie, les chromosomes se dirigent vers les pôles. Un début d'anaphase est très net dans la Fig. 14, Pl. II, chez *Listera*, et Fig. 29, Pl. III, chez *Cypripedium*.

La séparation et l'ascension des chromosomes ne s'effectuent pas en même temps pour tous et il arrive souvent de rencontrer, à côté de chromosomes disjoints, des gemini entiers (Fig. 2 et 3, Pl. III). Ce retard est parfois d'assez longue durée de sorte qu'on rencontre des figures télophasiques montrant sur les fibres fusoriales des couples non disjoints (Fig. 15, Pl. II).

Des chromosomes retardataires ont été observés également dans les divisions ordinaires, notamment chez *Cypripedium*. Pour la mitose réductionnelle, *Neottia* présente un bel exemple d'irrégularité dans la marche des chromosomes vers les pôles. Il se peut, comme il a été supposé pour d'autres objets, que les mouvements cytoplasmiques manifestent une intensité anormale, ce qui provoquerait des irrégularités dans leur ascension vers les pôles, comme pen-

dant leur acheminement, au début de la métaphase, vers la région centrale.

Tuschnyakova a fait certaines remarques sur la division du noyau méiotique de *Listera*. Il se formerait, à la suite de la division réductrice, aussi bien dans les cellules-mères du pollen que dans les macrospores, des noyaux à 16, 17 et à 18 chromosomes. Le nombre de 17 prédomine. Ce nombre variable serait dû au fait que certains gemini peuvent parvenir aux pôles entiers et se fusionneraient avec des chromosomes monovalents. Mais aucune preuve n'appuie cette hypothèse. L'auteur a figuré l'acheminement vers les pôles d'un gemini indivis. Cependant, il reconnaît que malgré le nombre très élevé des préparations examinées, il n'a jamais rencontré de plaques équatoriales doubles pour pouvoir se rendre compte du nombre de chromosomes dans chaque plaque et de leur comportement pendant l'ascension polaire. La même irrégularité a été rencontrée aussi par l'auteur dans les cellules-mères du pollen. L'auteur remarqua à côté des deux noyaux-fils de la première mitose, un troisième noyau formé par expulsion de chromatine. A la formation des tétrades, ce noyau s'entoure de cytoplasme et de membrane et forme une cellule complémentaire.

Nous n'avons pas étudié la formation du pollen dans cette espèce pour vérifier les données de Tuschnyakova. Mac Mahon qui a étudié la microsporogénèse dans *Listera* pense que le phénomène d'expulsion de chromatine ou de *cytomixie* serait dû à une fixation défectueuse. Cependant, ils ne sont pas rares les exemples donnés par divers auteurs dans d'autres objets, où la chromatine extruse d'une cellule à l'autre peut reconstituer un noyau. Nous avons observé plusieurs fois dans les cellules nourricières qui entourent le sac embryonnaire des phénomènes qui rappellent ceux de cytomixie.

Les Fig 13 et 14, Pl. III, montrent deux stades successifs d'extrusion chromatique dans l'ovule de *Neottia*. Ce phénomène se manifeste par un étirement du noyau à un des

pôles de la cellule et par la formation d'un bec qui traverse la paroi cellulaire et forme dans la cellule voisine une goutte où l'on distingue à peine une structure. C'est la chromatine nucléaire qui passe à travers la membrane et non le nucléole comme il a été décrit dans d'autres cas. Bien que la chromatine soit très condensée dans le globule, on arrive néanmoins à discerner une structure réticulée. D'ailleurs, le réticulum du noyau au moment où se fait l'extrusion présente un allongement et une orientation des travées vers la cellule contiguë.

Quant à l'hypothèse d'une fusion entre un gemini non-disjoint avec un chromosome monovalent, nous avons cherché avec soin dans nos préparations tout ce qui pourrait faire penser à cette supposition de Tuschnyakova. Nous n'avons trouvé que des gemini retardataires, comme nous venons de le signaler.

Il est vrai que dans de très rares figures télophasiques nous avons observé un ou deux gemini au voisinage des pôles, mais ceux-ci semblent rejetés d'un côté ou peuvent être englobés dans un des noyaux-fils, celui de la cellule supérieure destinée à se résorber.

Arrivés aux pôles, les chromosomes se raccourcissent et entrent dans une phase de repos. Mais ce stade n'est pas de longue durée, car bientôt les noyaux entrent en deuxième cinèse.

Selon Tuschnyakova chez *Listera* et Vermoesen dans d'autres Orchidées, il se forme après la première cinèse deux cellules inégales dont la supérieure, au voisinage du micropyle, plus petite, et la cellule inférieure beaucoup plus grande. La cellule supérieure se montre de plus en plus comme écrasée ; la seconde, plus volumineuse, riche en cytoplasme, à noyau très gros, se divise à nouveau.

Selon Modilewsky les quatre macrospores prendraient part à la formation du sac embryonnaire. Il ne se formerait pas de parois. Nous allons voir cependant que cette obser-

vation ne correspond pas aux nôtres pour la même espèce et ne s'applique à aucune autre Orchidée.

En effet, nous avons suivi de très près la formation de ces deux cellules inégales et nous avons remarqué que la membrane qui apparaît au milieu du fuseau sépare au début deux cellules égales. On voit l'ébauche de la paroi dans les deux figures télophasiques chez *Listera* et *Neottia* (Fig. 11, 24, Pl. III).

L'inégalité dans la taille des deux cellules-filles se dessine par la suite dans ce sens que pendant que la supérieure s'aplatit, la cellule inférieure augmente de volume. Cette évolution différente correspond au comportement des noyaux, c'est-à-dire que pendant que le noyau de la cellule supérieure n'esquisse qu'un début de mitose, dans la cellule inférieure le noyau achève la division, comme nous allons voir dans un instant.

Deuxième division.

Les chromosomes télophasiques ne demeurent pas longtemps sous l'aspect qu'ils avaient conservé dès la fin de la métaphase et de l'ascension polaire. L'intercinèse, de très courte durée, fait place à des modifications importantes au sein des noyaux-fils. Le contour des chromosomes change peu à peu, il devient de moins en moins régulier. Soudainement, on voit émerger de chacun de ces éléments des bouts de filaments qui s'individualisent peu à peu. Au fur et à mesure que ces derniers se dégagent, l'élément chromatique s'amenuise.

Les Fig. 20 à 24, Pl. I, montrent les stades successifs de cette transformation. Il semble que chaque masse chromatique ne représente en réalité qu'un long filament pelotonné et qu'on assiste au déroulement de ce filament préformé déjà et pelotonné dans le chromosome interphasique.

Chez *Neottia* et *Listera* ces noyaux se montrent extrêmement instructifs pour observer tous les aspects de transition entre la masse homogène et le filament qui naît. En réalité, il ne s'agit pas d'un seul filament mais de deux et ceux-ci ne représentent que les chromosomes-fils qui se séparent après un clivage, difficilement deviné à cause de la condensation très grande de la matière chromatique

C'est au début de la deuxième prophase qu'on peut discerner la dualité dans certains chromosomes, cette dualité étant marquée par les bords plus chromatiques qui indiquent le refoulement de la chromatine vers les extrémités latérales. On comprend facilement dans les figures suivantes l'évolution des filaments chromosomiques de la deuxième prophase.

Les rubans de chaque peloton ne cessent de se détendre, de se dérouler, remplissant la cavité nucléaire. C'est à ce moment qu'interviennent les couples caractéristiques en forme de V, de Y ou de croix dont les bras ne cessent de s'éloigner et de se séparer. Les Fig. 25, 26, Pl. I, montrent ces diverses étapes de séparation. Les branches apparaissent de plus en plus indépendantes l'une de l'autre, mais continuent à être attachées par leur milieu, ce qui explique les formes en croix, ou à une extrémité pour les chromosomes en V. Au fur et à mesure que la deuxième prophase avance, les filaments chromatiques s'épaississent en se raccourcissant, mais ils restent attachés encore un certain temps de sorte que les croix et les V apparaissent plus épais, comme dans la Fig. 26, Pl. I.

Lorsque la contraction des filaments est complète, c'est-à-dire à la plaque équatoriale, les bras sont à nouveau ramenés assez près les uns des autres. A ce moment le fuseau ne tarde pas à se former et les chromosomes à gagner la région centrale et à se placer à son équateur, où les chromosomes-fils complètement détachés se séparent vers les deux pôles de la façon que nous avons décrite dans les noyaux des méristèmes radiculaires.

Cependant, ce stade de plaque équatoriale n'est visible que dans la cellule inférieure, car la métaphase est supprimée dans la cellule du voisinage du micropyle. Dans cette dernière, aussitôt les moitiés chromosomiques isolées, et même avant, le noyau passe dans un état de repos définitif. Son rôle est terminé et la cellule très aplatie est refoulée vers l'épiderme. Il est à remarquer également le fait que la division nucléaire dans les deux noyaux-fils n'est pas toujours simultanée de sorte que, pendant que le noyau inférieur montre une activité cinétique avancée, le noyau supérieur se trouve encore dans son état d'intercinèse. De semblables figures sont assez fréquentes (Fig. 27, Pl. I).

Dans la Fig. 25, Pl. III, chez *Listera*, le noyau inférieur est en deuxième anaphase tandis que le noyau supérieur conserve son état intercinétique. On reconnaît à droite la présence d'un gemini. Cette cellule ne tardera pas à se désorganiser. La deuxième cinèse aboutit également à la formation de deux cellules de même taille au début, de taille différente ensuite. La cellule supérieure aura la même destinée que la précédente. Son noyau au repos se déchromatinise progressivement et la cellule s'aplatit. Par contre, le noyau de la cellule inférieure grossit sensiblement et la cellule très grande devient le sac embryonnaire.

La Fig 12, Pl. III, montre la région centrale d'une coupe effectuée dans un ovule. On reconnaît la cellule initiale du sac embryonnaire dont le noyau peu chromatique possède quelques chromocentres et, sous la cellule épidermique, les deux cellules aplaties qui vont se résorber bientôt.

Comme Vermoesen l'a défini, chez les Orchidées, la tétrade est incomplète dans le sac embryonnaire, car la résorbtion est si rapide qu'une des cellules-filles n'accomplit pas la seconde cinèse de maturation ou homéotypique. La seconde cellule-fille qui lui est homologue se divise en une cellule stérile et le sac embryonnaire. Vermoesen appelle ces cellules stériles inégales par analogie avec les

« globules polaires » de l'œuf des animaux, « cellules polaires » ou polocytes.

Le noyau de la cellule initiale du sac embryonnaire chez *Neottia* et *Listera* donne à la suite de trois divisions successives, comme chez la plupart des Monocotylédonnées, huit noyaux dont l'un, le noyau de l'oosphère, se fusionne avec l'élément mâle conduit par le tube pollinique.

Le nombre de huit noyaux dans le sac embryonnaire semble général chez les Orchidées sauf pour l'*Oncidium* où il a été démontré que ce nombre est de 6 et pour *Cypripedium* où il est de 4.

Dans *Cypripedium parviflorum* Miss Pace a trouvé une oosphère, deux synergides et un noyau polaire. L'appareil antipodial qui dégénère dans plusieurs Orchidées manque complètement chez *Cypripedium*.

Selon Miss Pace, après la première cinèse hétérotypique, une cloison sépare deux cellules, la cellule supérieure qui se désorganise et la cellule inférieure dont le noyau se divise une fois par mitose homéotypique donnant deux noyaux-fils qui produisent les quatre noyaux du sac embryonnaire.

DEUXIÈME PARTIE

La méiose dans les cellules-mères des grains de pollen.

Les observations faites sur les phénomènes de la réduction chromatique dans la cellule-mère des macrospores se trouvent nettement confirmées par l'étude des cinèses polliniques.

Dans les anthères, les figures sont bien plus abondantes et souvent on peut obtenir dans une même loge plusieurs stades différents. Ainsi observe-t-on dans certains lots de la même loge de l'anthère que les noyaux sont par exemple en diacinèse alors qu'à l'autre extrémité ils se montrent en zygotène ou en pachytène. Les stades doivent être franchis assez rapidement si l'on en juge au degré évolutif des chromosomes dans une même loge.

Les résultats exposés dans cette deuxième partie se réfèrent aux cinèses polliniques dans les espèces citées au début de ce travail. Dans toutes ces espèces, la série des phénomènes qui se succèdent pendant l'évolution des chromosomes à partir d'un réseau à peine distinct, se montre à peu près la même. Aussi, pour éviter les répétitions, décrirons-nous les divers stades en utilisant, à titre de comparaison, toutes les espèces ensemble, mais en spécifiant toutefois l'objet précis lorsque les caractères sont plus évidents.

Première division.

Prophase. — Une section effectuée dans les sacs polliniques de diverses Orchidées, montre une légère différenciation entre les cellules du tapis et les cellules-mères des microspores. Cette différenciation tient surtout à la taille des noyaux, qui est plus élevée dans les cellules du tapis, et bien moins à la différence de teinte observée dans d'autres plantes.

Les cellules-mères occupent le centre de la jeune anthère. Ce sont des cellules riches en cytoplasme, à noyaux pauvres en chromatine : celle-ci figure sous la forme d'un réseau plus ou moins marqué portant des chromocentres de diverses tailles et de nombre variable. Ces chromocentres sont disposés surtout à la périphérie et au voisinage immédiat de la membrane nucléaire.

La Fig. 39, Pl. IV, montre le noyau au repos dans une cellule-mère du pollen chez *Aceras*. On distingue des granules colorés sur le pourtour de la membrane et des bandes structurées qui représentent les vestiges des chromosomes de la dernière mitose somatique incomplètement alvéolisés. Dans d'autres noyaux, on peut déceler également, à part le nucléole et dans un réseau faiblement coloré, certaines dispositions qui rappellent les bandes chromatiques de la dernière télophase (*Orchis*, *Ophrys*, *Loroglossum*). Le réseau est presque absent ou extrêmement tenu chez *Cattleya* et *Oncidium*, plus distinct chez *Nigritella* et bien visible quoique assez fin chez l'*Epipactis*.

Dans tous ces noyaux, le réseau, qu'il soit plus ou moins chromatique pendant le repos, se caractérise au début de la prophase par une affinité pour les colorants qui le rend partout plus distinct. On se rend compte de cette chromatophilie dans le même massif cellulaire où l'on distingue, en général, plusieurs îlots dont les noyaux sont en divers stades.

De ce réseau se dégagent bientôt, par la rétraction des fines anastomoses, des filaments fins bien moins chromatiques que dans les noyaux riches en chromatine. Peu à peu ces filaments s'étirent dans la cavité nucléaire qui augmente de volume, ils deviennent longs et d'une minceur souvent exceptionnelle.

Les filaments leptotènes en achevant de se différencier, s'associent deux par deux pour donner à la fin le spirème épais.

La structure de ces filaments apparaît toujours granulaire. Ainsi que nous l'avons déjà décrit, cet aspect est dû à une condensation inégale de la chromatine.

Les Fig. 1, 2, 3, 5, 16, 20, 24, 26, 33, 40, Pl. IV, se rapportant à plusieurs espèces, montrent successivement cette structure granulaire aussi bien dans les filaments qui s'échappent de la contraction synaptique que dans les anses pachytènes à tout moment de leur évolution. Dans toutes ces figures, le noyau contient, tantôt un mélange de filaments minces et épais, nettement doubles, tantôt un cordon complètement pachytène.

Nous avons recherché avec une attention particulière, afin de voir comment se réalise l'apparition des filaments minces au début de la prophase, s'il y a un rapport entre ces filaments et les granules qui figurent sur le réseau, c'est-à-dire si ces filaments tirent leur origine de ces éléments.

On se rappelle que chez *Orchis*, *Ophrys*, *Loroglossum*, Guignard dans un travail ancien a signalé que les granulations chromatiques disséminées dans le noyau quiescent se rassemblent et s'amassent en grains plus gros et par conséquent moins nombreux.

En effet, la présence très fréquente de deux corpuscules appariés nous a fait penser au dualisme zygosomique décrit dans les noyaux à prochromosomes. Les Fig. 1, 2, 5, 7, Pl. IV, montrent divers aspects des noyaux dans plusieurs espèces. On voit souvent des granules disposés en couples et se terminant par des filaments parallèles. Cependant,

un examen très minutieux effectué sur un très grand nombre de préparations, révèle, par le maniement de la vis micrométrique, que si la présence de granules rapprochés est souvent due à un effet du hasard, dans la plupart des noyaux il ne s'agit que de la section optique de deux filaments conjugués. Cet aspect cesse lorsqu'on regarde dans la profondeur du noyau où l'on ne trouve plus aucun élément d'aspect granulaire (Fig. 7, Pl. IV).

Quant à la formation des filaments leptotènes, ils se réalisent de la façon déjà décrite dans les autres Orchidées. Les filaments se forment aux dépens du réseau et des chromocentres qui s'allongent et s'incorporent progressivement dans leur substance. Les chromocentres peuvent être suivis longtemps dans le noyau leptotène et même zygotène, mais leur volume est bien diminué. Les Fig. 1, 2, 5, 6, 26, Pl. IV, montrent la présence de ces chromocentres dans divers stades. On les voit, sur le parcours des filaments minces, qui se rapprochent de plus en plus, se touchent ensuite en certains endroits jusqu'au moment où le contact est presque parfait sur toute l'étendue.

Dans les Fig. 8 et 20, Pl. IV, le rapprochement des filaments a atteint son terme. A ce stade, les dernières traces de chromocentres ont complètement disparu.

Au sortir du stade pachynema, les deux filaments conjugués, en se condensant et en se raccourcissant, s'écartent de plus en plus l'un de l'autre à des distances variables. Ces figures sont très caractéristiques dans les noyaux diplotènes. De 41 à 43 les figures se rapportent au noyau d'*Aceras*. Les segments constitutifs de chaque cordon sont plus épais et plus courts et le contour apparaît noueux.

A partir de ce stade on peut suivre toutes les transitions des branches composantes des noyaux en cinèse. On les voit tantôt s'entrecroiser, tantôt se rapprocher sous forme de bâtonnets doubles. En même temps, il devient possible de compter ces couples dès ce stade et de voir que leur nombre coïncide avec la moitié du nombre de l'espèce.

Dans les Fig. 40 et 42 on voit côte à côte deux noyaux appartenant à la même espèce. Dans le second qui est un noyau diacinétique, les filaments qui s'écartent sont plus épais et à contour irrégulier tandis que dans le premier, qui est un noyau zygotène, les filaments qui se rapprochent sont minces et le contour net. Ces figures ont été empruntées à la même loge de l'anthère.

Les fig. 3, 6, 24, 26, Pl. IV, représentent des noyaux en synizezis qui est également peu accentué dans les Orchidées épiphytes et les Ophrydées. Dans *Oncidium* et *Cattleya* le synizezis est plus marqué, de même parmi les Ophrydées, dans *Orchis maculata* et *Loroglossum hircinum*

Lorsque les cordons diplotènes et, plus tard, les chromosomes diacinétiques ont les branches plus écartées, on peut parfois observer le lien qui les rattache, et, en même temps, on voit des tractus qui lient plusieurs couples entre eux, mais ces derniers sont plus ou moins visibles suivant les espèces.

En effet, les filaments d'union, très fins, n'apparaissent pas facilement au premier examen. Cependant, par une observation prolongée, un œil accoutumé arrive à discerner ces anastomoses presque dans tous les noyaux. Ainsi, ils sont très évidents dans les noyaux diplotènes et diacinétiques de *Goodyera*, *Aceras*, *Epipactis*, *Nigritella* (Fig. 26, Pl. II ; 41, 43, Pl. IV). On distingue également, dans les mêmes noyaux, la différence de taille des gemini qui est aussi caractéristique que dans les noyaux des cellules-mères des sacs embryonnaires des espèces déjà étudiées. A la fin de la prophase, le noyau a atteint le maximum de volume.

L'aspect des gemini diacinétiques rappelle encore les formes du stade précédent. Les contours demeurent irréguliers. Leur forme est en X, ou en anneaux plus ou moins elliptiques, fermés de deux côtés ou ouverts d'un côté. La plupart sont en forme de courts bâtonnets doubles fixés

par un bout et séparés par l'autre, ou disposés l'un sur l'autre.

Métaphase et **anaphase.** — Finalement, lorsque le raccourcissement et la condensation de la matière chromatique au sein des chromosomes associés est pleinement accomplie, les geminis définitifs sont formés. Leurs contours sont nivelés et la coloration est homogène (Fig. 27 et 30, Pl. II ; 19, 30 34, 48, Pl. IV).

A ce moment, le nucléole disparaît soudainement tandis que dans la cavité nucléaire le fuseau se dessine progressivement. Sur ce fuseau, les chromosomes apparaissent dispersés, formant une sorte de file dans laquelle ils se montrent unis par des filaments courts et très fins. L'arrangement en plaque équatoriale qui suit les divers mouvements prémétaphasiques est à la fin régulier. Les files chromosomiques en se tordant dans la région centrale arrivent à se loger sur une même ligne, de telle façon que les deux composants se disposent l'un d'un côté du plan équatorial, l'autre du côté opposé. Ce stade semble de courte durée si l'on en juge à la rareté des images à chromosomes disposés en une seule ligne ; par contre, l'anaphase est longue, c'est un des stades les plus riches en aspects.

La disjonction chromosomique réalisée, les deux moitiés se dirigent chacune vers un pôle. Cependant, la séparation des branches ainsi que leur évolution sur les fibres fusoriales ne s'effectuent pas en même temps.

Parmi les Orchidées épiphytes, dans *Cattleya* et *Oncidium* nous n'avons pu suivre, faute de matériel, que la prophase, mais les stades suivants nous ont été fournis par *Epidendrum anceps*. Dans cette dernière espèce, les images des chromosomes retardataires sont très fréquentes aussi bien dans l'anaphase I que dans l'anaphase II. Les Fig. 11, 14, Pl. IV, montrent divers aspects du noyau de division. En 10 la file prémétaphasique est très caractéristique. Dans la même espèce, le mouvement d'écartement mutuel donne

à l'anaphase des aspects assez particuliers. Il arrive souvent que le lien qui unit les composants disjoints, bien que ceux-ci soient assez éloignés, persiste longtemps.

Deuxième division.

Aux pôles, les chromosomes entrent bientôt en un court stade de repos pendant lequel les noyaux-fils préparent la deuxième cinèse. La membrane nucléaire est bien visible sauf le nucléole qui n'a pas eu le temps de se reformer car la seconde mitose suit de près la première. En effet, malgré l'état intercinétique qui est plus long que dans les macrospores, les noyaux-fils changent rapidement de volume et ne tardent pas à se remplir de filaments spiralés.

Le début de cette deuxième prophase présente les mêmes caractères que dans les mitoses ordinaires. Des filaments spiralés issus d'un clivage antérieur, anaphasique ou intercinétique, se dessinent de plus en plus. Peu à peu ils s'épaississent, il est alors plus facile de constater que ces filaments ou chromosomes-fils ne sont pas complètement libres, mais attachés deux par deux dans leur milieu ou à une extrémité. Les Fig. 23, Pl. II ; 15, Pl. IV, montrent certains aspects de ce stade. On peut fréquemment suivre les deux branches qui restent attachées l'une avec l'autre en un ou plusieurs endroits, donnant les formes en V, Y, X. A la plaque équatoriale, les bras de chromosomes se rapprochent à nouveau avant de se séparer en deux moitiés qui rejoignent les pôles pour reformer les quatre noyaux des microspores.

Nous avons observé également la division du noyau des grains de pollen qui donne naissance aux noyaux reproducteur et végétatif. Les mitoses n'offrent rien de particulier et s'accomplissent selon les règles d'une mitose ordinaire à nombre chromosomique réduit de moitié.

Les Fig. 31-33, Pl. IV, montrent divers stades de la divi-

sion du noyau dans une microspore de *Cypripedium*. A l'anaphase on retrouve les chromosomes retardataires signalés particulièrement dans cette espèce lors de la mitose ordinaire.

La structure réticulée des noyaux des grains de pollen est plus ou moins visible suivant les espèces. Le réseau est très faible et porte quelques chromocentres dans *Orchis militaris* (Fig. 27, Pl. IV), *O. latifolia* ; il est plus marqué dans *O. maculata*.

Le noyau végétatif se montre presque toujours aplati. Hagerup a fait de très intéressantes observations sur la division du noyau de la microspore dans plusieurs *Orchis* et notamment *O. maculata*.

Dans cette mitose, la métaphase est régulière, mais à l'anaphase les chromosomes se groupent de différentes manières. Les chromosomes qui vont donner le noyau générateur se disposent en surface plane tandis que, au pôle opposé, les chromosomes du noyau végétatif se rassemblent en un groupe hémisphérique. Les fibres fusoriales se détachent du noyau végétatif et se distribuent en éventail autour du noyau générateur. Cet éventail se déplie de façon continue vers les côtés, enveloppe le noyau pendant qu'une membrane cellulaire entoure celui-ci.

Quant aux phénomènes de cytomixie dans l'anthère, nous les avons rencontrés très rarement dans les espèces que nous venons d'étudier. *Goodyera repens* est la seule espèce où les images d'extrusion chromatique sont relativement fréquentes (Fig. 32, Pl. IV).

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

La question que nous nous sommes posée de savoir s'il y a préréduction ou postréduction chez les Orchidées, nous a incitée à entreprendre une étude détaillée sur leur cinèse de maturation. Voici les faits importants qui se dégagent de ces recherches :

La première division hétérotypique se caractérise par une longue prophase pendant laquelle les chromosomes, sous forme de filaments chromatiques issus d'un noyau réticulé, se rejoignent et se conjuguent étroitement.

Ces filaments minces ou leptotènes qui proviennent de la transformation du réseau plus ou moins chromatique et se rapprochent deux par deux pour constituer une anse pachytène, réalisent une conjugaison parallèle ou *parasyndèse.*

Il a été démontré, aussi bien dans la cellule animale que dans la cellule végétale, que les filaments qui se conjuguent ont chacun la valeur d'un chromosome somatique. Ce sont des chromosomes entiers, homologues, qui apparaissent très longs et individualisés.

Le rapprochement des rubans ne se manifeste pas immédiatement à la sortie du réseau au repos, mais après que les filaments leptotènes se sont nettement organisés.

Dans tous les objets, les filaments se forment aux dépens du réseau et des chromocentres qui s'incorporent en s'égalisant avec la substance chromatique.

Dans les noyaux à chromocentres presque exclusifs, malgré certains aspects offerts par le rapprochement de granules par deux à l'origine des filaments conjugués, le

mécanisme de l'appariement se réalise de la même façon que dans les autres Orchidées.

Les granules doubles ne sont en général que la section optique de deux filaments conjugués, et lorsque, très rarement, ce sont de vrais granules, leur rapprochement n'est dû qu'au hasard.

Aussitôt constitués, les filaments leptotènes montrent une tendance à se grouper par deux, tendance qui va s'accentuant au cours des phases suivantes.

Les filaments appariés ne se fusionnent pas l'un avec l'autre, ils conservent durant le stade pachytène une vraie indépendance.

A aucun moment le cordon pachytène n'est unique, indivis. On discerne toujours une dualité qui est révélée surtout par la structure de chaque filament conjugué. Ces filaments montrent une alternance entre parties moins chromatiques et parties plus chromatiques simulant les chromomères des auteurs.

Les chromomères ne sont pas des corpuscules indépendants, mais des granules plus ou moins allongés qui font partie du filament lui-même, caractérisant une région plus dense en matière chromatique. C'est le résultat d'une condensation inégale de la chromatine.

Ces granules gardent leur indépendance dans les filaments associés et peuvent se correspondre ou non d'un filament à l'autre. Mais cette correspondance n'est parfaite ni pour le nombre ni pour la forme.

Lorsqu'à la fin de la prophase les filaments se raccourcissent, la structure granulaire fait place à des tractus plus ou moins longs, presque fusionnés en une seule ligne qui apparaît spiralée.

Le noyau pachytène présente des aspects divers : il contient des cordons, tantôt remplissant la cavité nucléaire dans toutes les directions, tantôt montrant une contraction de la masse nucléaire en un peloton, synizezis ou synapsis ancien.

La contraction synaptique s'observe également dans les noyaux leptotènes et zygotènes. Elle est peu accentuée chez les Orchidées et ne forme jamais un peloton plus ou moins compact, comme dans d'autres plantes. Ce phénomène, qui semble réel vu sa constance, peut être accentué par les fixateurs.

L'appariement de deux filaments n'est que temporaire, car, à la fin de la prophase, les segments conjugués se séparent un peu avant de se raccourcir. L'apparition de cette séparation, ou dédoublement longitudinal, dans le noyau diplotène, ainsi que le raccourcissement des moitiés, marquent l'amorce des phénomènes qui conduisent à la diacinèse. En se raccourcissant, les branches deviennent nettement antagonistes de sorte que leur mouvement se montre inverse de celui qu'on observe au moment de l'appariement.

Les cordons diplotènes caractérisés par les deux branches croisées ou entrelacées, attachées à une ou aux deux extrémités, donnent progressivement, par raccourcissement et par nivellement de leurs bords, les gemini diacinétiques.

Chez la plupart des Orchidées, la différence de dimensions entre les divers gemini est très marquée.

Si la prophase hétérotypique est normale dans les cellules-mères des macrospores et des microspores, par contre, la métaphase et l'anaphase présentent certaines irrégularités qui se traduisent par les faits suivants :

premièrement, par les phénomènes qui précèdent et préparent la mise des chromosomes à la plaque équatoriale ;

deuxièmement, par le comportement des chromosomes pendant la disjonction anaphasique et l'ascension polaire.

Le premier cas, correspond à la disposition des chromosomes au stade de la prémétaphase en files englobées dans le fuseau en formation. Dans *Neottia* et *Listera* il se forme particulièrement des anneaux fermés composés de deux à quatre chromosomes enlacés les uns aux autres. Ces dispositions ne représentent qu'un aspect passager du mouve-

ment que les chromosomes effectuent pour s'orienter et occuper finalement la région centrale du fuseau. En se concentrant, les chromosomes atteignent tous le plan équatorial de sorte que la métaphase n'offre rien de particulier.

Le deuxième cas est caractérisé d'une part par le retard que certains univalents éprouvent dans leur dissociation au début de l'anaphase, et d'autre part par leur ascension polaire qui s'effectue à des vitesses inégales.

Des chromosomes retardataires dispersés sur les fibres fusoriales, pendant l'ascension polaire, sont visibles chez les Orchidées, non seulement dans la cinèse maturative mais aussi dans les divisions ordinaires des noyaux des méristèmes radiculaires.

Aux pôles, les chromosomes télophasiques s'entourent d'une membrane. Le nucléole ne se reforme pas, car l'état intercinétique est de très courte durée surtout dans les cellules-mères des macrospores. Les chromosomes contractent quelques anastomoses, mais conservent leur individualité et deviennent les chromosomes de la deuxième division qui est homéotypique.

La deuxième prophase est caractérisée par la présence des filaments chromatiques qui proviennent d'un clivage antiprophasique. Vu la condensation intense de la matière chromatique, il nous est impossible d'affirmer si ce clivage est ana- ou interphasique. C'est seulement pendant l'interphase qu'on constate une dualité dans les chromosomes, dualité manifestée par une coloration intense des extrémités latérales, ce qui indique le refoulement de la chromatine vers les bords.

Le plus souvent, les chromosomes-fils restent en coalescence l'un avec l'autre en un ou plusieurs endroits. Cette adhérence leur donne l'aspect de deux branches assez indépendantes l'une de l'autre et disposées en V ou en croix. Ces formes caractéristiques sont dues aux degrés d'écartement et de croisement des branches. Ainsi, si les chromosomes entrecroisés ou entrelacés restent accolés vers le

milieu de leur longueur et divergent ensuite, la forme est en X ; si les branches sont attachées sur toute leur longueur, ils apparaissent comme un bâtonnet double ; en V lorsque les bras sont unis à un bout seulement.

La mitose hétérotypique, en dissociant à la métaphase I les deux branches d'un bivalent, réalise la vraie réduction. C'est une division *préréductionnelle.* Elle sépare des chromosomes entiers qui représentent les chromosomes-pères de la deuxième cinèse homéotypique.

Cependant, la marche normale de la mitose réductionnelle est quelque peu modifiée par certaines anomalies déjà citées : disposition des chromosomes diacinétiques à la prémétaphase, en files et en anneaux enlacés, séparation des branches des gemini et leur ascension vers les pôles, en divers temps, présence des chromosomes retardataires sur les fibres fusoriales et leur dispersion sans ordre sur le fuseau, etc. Toutes ces anomalies rappellent celles qui ont été signalées chez les hybrides ou provoquées chez les plantes par l'action de divers agents physiques et chimiques, rayons X, températures anormales. On peut se demander si, chez les Orchidées, l'excitation qui provoque toutes ces réactions, toutes ces anomalies, ne serait pas due au champignon mycorhizique dont la présence influerait sur les manifestations les plus intimes de la vie cellulaire. Ainsi, chez *Neottia nidus-avis* où le champignon remplit et hypertrophie les cellules de la racine, les irrégularités cytologiques sont les plus évidentes.

BIBLIOGRAPHIE

AFZELIUS (K.). — Zur Embryosackentwicklung der Orchideen. *Svensk. Bot. Tids.*, 10, 183-227, 1916.

ALLEN (C. E.). — Chromosome reduction in *Lilium canadense. Bot. Gaz.*, 37, 1904.

— Das Verhalten der Kernsubstanzen während des Synapsis in den Pollenmutterzellen von *Lilium canadense. Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1905.

BELLING (J.). — Detachement (elimination) of chromosomes in *Cypripedium acaule. Bot. Gaz.*, 78, 458-460, 1924.

— The ultimate chromomeres of *Lilium. Univ. Calif. Publ. Bot.* 14., 1928.

— Chromomeres of liliaceous plants, *id.*, 16, 1931.

BERGHS (J.). — La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogenèse végétale. Depuis le spirème jusqu'aux chromosomes mûrs dans la Microsporogénèse d'*Allium fistulosum* et de *Lilium lancifolium (speciosum). La Cellule*, 21, 1904.

— La Microsporogénèse de *Convallaria majalis. La Cellule*, 22, 1905.

— La Microsporogénèse de *Drosera rotundifolia, Narthecium ossifragum* et *Heleborus fœtidus. La Cellule*, 22, 1905.

BONNEVIE (Mlle K.). — Chromosomenstudien, Chromatinreifung in *Allium Cepa. Archiv. f. Zellforschung.*, 1911.

CHODAT (R.). — Sur la réalité de la chiasmatypie dans la cinèse de maturation de l'*Allium ursinum. C. R. Soc. de Phys. et d'Hist. Nat. de Genève*, 1925.

— La chiasmatypie et la cinèse de maturation dans l'*Allium ursinum. Bull. Soc. Bot. de Genève*, 1925.

CLELAND (R. E.). — The reduction division in the pollen mother-cells of *Oenothera franciscana. Americ. Jour. Bot.*, 9, p. 391-413, 1922.

— Meiosis in the pollen mother-cells of *Oenothera biennis* and *O. biennis sulfurea. Genetics*, 11, 127-162, 1926.

DARLING (Ch. A.). — Chromosome behaviour in *Acer platanoïdes* L. *Americ. Journ. of Bot.*, 10, 1923.

DARLINGTON (C. D.). — Recent advances in Cytology. London, 1937.

DIXON (N.). — On the first mitosis of the spore mother-cells of *Lilium.* Notes from the Botanical Laboratory of Trinity College Dublin, 1901.

Dumée. — Note sur le sac embryonnaire des Orchidées. *Bull. Soc. Bot. de France*, 1899.

Eftimiu-Heim (Mme P.). — Sur la structure du noyau quiescent dans la famille des Orchidées. *C. R. Ac. Sc.*, 212, p. 1096, 1941.

— Recherches sur le noyau des Orchidées. *Le Botaniste*, XXXI sér., p. 65-110, 1941.

Farmer (J. B.) and Moore (J.). — New investigations into the reduction phenomena of animals and plants. *Proc. Roy. Soc.*, LXXII, 1903.

Friemann (W.). — Uber die Entwicklung der generativen Zelle im Pollenkorn der Monocotylen Pflanzen. *Diss. Bonn.*

Grégoire (V.). — Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes. *La Cellule*, 22, 1905.

— La formation des gemini hétérotypiques dans les végétaux. *La Cellule*, 24, 1907.

— Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique. *La Cellule*, 26, 1910.

Guignard (L.). — Recherches sur le développement de l'anthère et du pollen des Orchidées, 6e sér., 14, 1882.

Guilliermond (A.), Mangenot (G.) et Plantefol (L.). — Traité de cytologie végétale. Paris, 1933.

Hagerup (O.). — A peculiar asymetrical mitosis in the microspore of *Orchis. Hereditas*, XXIV, 1938.

Hermans (Christine). — La prophase méiotique chez le *Lilium Martagon. La Cellule*, 45, 1936.

Janssen (F. A.). — La théorie de la Chiasmatypie. *La Cellule*, 24, 1909.

— La chiasmatypie dans les Insectes. *La Cellule*, 34, 1924.

Jouvenel-Marcillac (Mlle M.). — Recherches sur le noyau. Structure du noyau quiescent, mitose somatique et mitose réductrice chez *Brassica campestris. Rev. Gén. Bot.*, I., 51, 1939.

Mac Mahon (B.). — Meiosis in the pollen Mother-cells of *Listera ovata* R. Br. *La Cellule*, 45, 1936.

Miyake (K.). — Ueber Reductionsteilung in der Pollenmutterzellen einiger Monocotylen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, XLI, 1905.

Modilewsky (F.). — Cytological und embryological studies on *Neottia nidus-avis* (L.). *Rich. Mém. Soc. Nat. Kiew*, 1918.

Mottier (D. M.). — Beiträge zur Kenntnis der Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen und Dikotylen ; *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1897.

— The developpment of heterotypic chromosomes in pollen mother-cells. *Bot. Gaz.*, 40, 1905.

Overton (J. B.). — Ueber Reduktionsteilung in den Pollen mutter-zellen einiger Dikotylen. *Jahrb. wiss. Bot.*, XLII, 1905.

Pace (L.). — Fertization in *Cypripedium. Bot. Gaz.*, XLIV.

Richardson (M. M.). — Chromosome variation in *Listera ovata* R. Br. *Univ. Calif. Pub. Bot.*, 17, 1933.

ROSENBERG (O.). — Ueber die Reductionsteilung in *Drosera* ; *Med. fr. Stockholm's Högskolas Bot. Inst.*, 1904.

— Zur Kenntnis der Reduktionsteilung in Pflanzen. *Bot. Notis*, 1-24, 1905.

— Cytologische und Morphologische Studien in *Drosera longifolia × rotundifolia. Kungl. Svenska Vetenskapsakad.* Hand. XLIV, 1909.

SARGANT (Miss). — The formation of the sexual nuclei in *Lilium martagon Ann. of. Bot.*, V, 39, 1896.

STANER (P.). — Préréduction ou postréduction dans *Listera ovata* R. Br. *La Cellule*, 39, 1930.

STRASBURGER (E.). — Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen, Jena, 1884.

— Ueber Reductionsteilung. *Ber. der K. Preus. Akad. der Wiss.*, 1904.

— Typische und allotypische Keinteilung .*Jahrb. f. wiss. Bot.*, XLII. 1905.

— Die Stofflichengrundlagen der Vererbung im Organischen Reich, Jena, 1905.

TUSCHNYAKOVA (M.). — Embryologische und Zytologische Beobachtungen über *Listera ovata* (Orchidaceen). *Planta*, 7, 1929.

VALCANOVER (R.). — Contribution à l'étude de la réduction dans l'*Œnothera biennis*. *La Cellule*, 37, 1926.

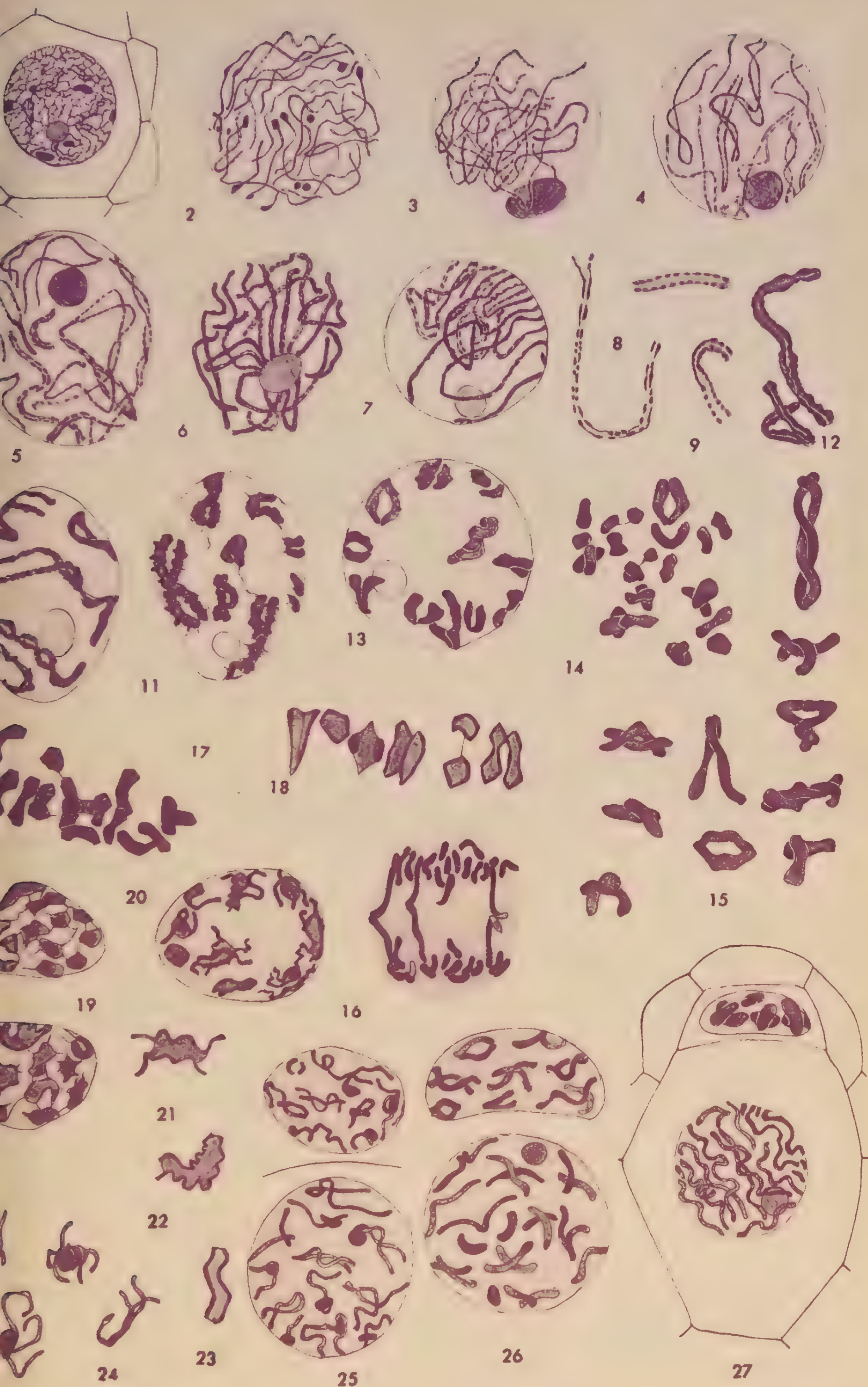
VERMOESEN (C.). — Contribution à l'étude de l'ovule, du sac embryonnaire et de la Fécondation dans les Angiospermes (*Neottia ovata*, *Orchis latifolia*, *O. maculata*, *Epipactis palustris*, *E. latifolia*). *La Cellule*, 27, 1911.

WILSON (E.) et MORGAN (T. H.). — Chiasmatypie and crossing-over. *Amer. Natur.*, 54, 1920.

YU CHIH-CHEN. — Recherches sur quelques problèmes de la caryocinèse des Angiospermes. Thèse Paris, 1938.

PLANCHE I

Fig. 1-27. — *Neottia nidus-avis*, 1, noyau quiescent dans la cellule-mère du sac embryonnaire; 2, noyau leptotène; 3, id. en synizezis, on observe nettement les granules chromomériques ; 4, début de zygoténie ; 5, noyau zygotène ; 6, noyau pachytène ; 7, synizezis et anses pachytènes ; 8, cordon pachytène isolé, les granules et traits chromatiques nets dans les deux filaments intimement rapprochés ; 9, granules chromatiques dans les chromosomes d'une prophase ordinaire ; 10, noyau diplotène ; 11, chromosomes diacinétiques avec spiralisation des segments composants ; 12, deux cordons diplotènes isolés, la substance chromatique forme une ligne continue dans chaque filament conjugué ; 13, diacinèse avancée; 14, les 18 chromosomes définitifs vus du pôle ; 15, divers aspects d'attachement des branches constitutives des gemini ; 16, anaphase d'une mitose ordinaire, les chromosomes sont de diverses dimensions ; 17, chromosomes disposés dans la région centrale de la cavité nucléaire ; 18, concentration de la chromatine sur les bords des chromosomes ; 19, intercinèse ; 20-24, diverses phases de la formation des chromosomes-fils dans la prophase II; 25, deuxième prophase ; 26, prophase avancée ; 27, coupe dans les deux macrospores, dans la cellule supérieure les chromosomes intercinétiques sont restés intacts tandis que dans la cellule inférieure le noyau se trouve en prophase avancée.



L. Le Charles imp.

PLANCHE II

Fig. 1-10 et 14. — *Listera ovata*, 1, noyau leptotène, la structure granulaire est très nette ; 2, noyau pachytène ; 3, cordon strepsitène, l'enlacement des rubans est très évident ; 4, filaments strepsitènes unis par un filament fin ; 5 et 6, même stade, dans les branches, la chromatine est disposée en une ligne continue ; 7, noyau diplotène ; 8, noyau diacinétique ; 9, gemini ; 10, chromosomes définitifs vus du pôle ; 14, métaphase.

Fig. 11-13 et 15. — *Neottia nidus-avis*, 11 et 12, aspects des chromosomes à la prémétaphase ; 13, insertion des chromosomes à la plaque équatoriale ; 15, gemini non disjoints sur les fibres fusoriales.

Fig. 16 et 34. — *Epipogon aphyllum*, 16, chromosomes définitifs, 34, anaphase.

Fig. 17 et 24. — *Epipactis latifolia*, 17 et 18, aspects des noyaux zygotènes, dans les microspores ; 19, disposition des gemini au début de la métaphase ; 20, chromosomes définitifs vus du pôle ; 21, métaphase, 22, intercinèse ; 23, deuxième prophase, chromosomes en croix et en V ; 24, noyau quiescent dans la cellule-mère du sac embryonnaire.

Fig. 25-33. — *Nigritella nigra*, 25, noyau quiescent dans la cellule-mère des microspores ; 26, noyau diacinétique ; 27, gemini unis par des fins tractus ; 28 et 29, disposition des chromosomes sur les fibres du fuseau en formation ; 30, chromosomes définitifs vus du pôle ; 31, métaphase ; 32, fin d'anaphase ; 33, noyau du sac embryonnaire.



L. Le Charles imp.

PLANCHE III

Fig. 1-14. — *Neottia nidus-avis*, 1, noyau pachytène avec 18 cordons ; 2 et 3, aspects d'anaphase, on distingue à côté des gemini non disjoints, des branches séparées ; 4 et 5, plaques équatoriales régulières ; 6 à 10, diverses dispositions des chromosomes sur l'ébauche fibrillaire à la prémétaphase ; 11, télophase, début de la membrane qui sépare deux cellules égales ; 12, coupe dans un ovule, on reconnaît le sac embryonnaire avec un gros noyau peu coloré, deux cellules supérieures stériles et la cellule épidermique ; 13 et 14, cytomixie.

Fig. 15-25. — *Listera ovata*, 15, chaînes, anneaux enlacés ; 16-20, divers aspects des gemini, en 17, on distingue de fines anastomoses sur les bords des chromosomes ; 21, chromosomes irrégulièrement éparpillés sur le fuseau ; 22, chromosomes à la prémétaphase ; 23 rassemblement des gemini à la plaque équatoriale ; 24, noyaux télophasiques, les chromosomes conservent leur individualité, on voit aussi l'ébauche de la membrane, au milieu du fuseau ; 25, coupe dans l'ovule, dans la cellule supérieure les chromosomes ont gardé l'aspect télophasique, on distingue à droite un gemini, dans la cellule inférieure le noyau est en deuxième anaphase.

Fig. 26-33. — *Cypripedium insigne*, 26, gemini diacinétiques ; 27, chromosomes à la prémétaphase ; 28, chromosomes définitifs, vus du pôle ; 29, plaque équatoriale ; 30, noyaux-fils de la prophase II, le centre de la cellule est occupé par une grosse vacuole ; 31-33, division du noyau de la microspore ; 31, fin prophase ; 32, métaphase ; 33, anaphase.

Fig. 34-36. — *Cephalanthera grandiflora*, 34, noyau quiescent dans la cellule-mère de la macrospore, le réseau porte quelques chromocentres peu colorés ; 35, synizezis ; 36, chromosomes définitifs.



Le Charles, phot. imp.

PLANCHE IV

Fig. 1-4. — *Cattleya labiata*, 1, noyau leptotène ; 2, noyau zygotène, on distingue la structure granulaire des filaments ainsi que quelques chromocentres rapprochés par deux ; 3, synizezis ; 4, microspore.

Fig. 5-8. — *Oncidium excavatum*, 5, leptonema ; 6, synizezis ; 7, filaments zygotènes avec les extrémités sectionnées ; 8, pachynema.

Fig. 9. — *Herminium monorchis*, début de la prophase.

Fig. 10-15. — *Epidendrum anceps*, 10, chaîne ; 11, disposition irrégulière des chromosomes à la prémétaphase ; 12, anaphase, chromosomes retardataires : 13, deuxième métaphase ; 14. deuxième anaphase, la migration des chromosomes vers les pôles s'effectue à des vitesses inégales ; 15, deuxième prophase, chromosomes en croix, en V.

Fig. 16-19. — *Ophrys aranifera*, 16, noyau zygotène ; 17, strepsinema ; 18, deuxième prophase dans l'ovule ; 19, gemini diacinétiques.

Fig. 20-23. — *Ophrys muscifera*, 20,.pachynema ; 21, strepsinema ; 22, chromosomes définitifs ; 23, noyau du sac embryonnaire.

Fig. 24-25. — *Orchis maculata*, 24, synizezis ; 25, chromosomes définitifs.

Fig. 26. — *Orchis purpurea*, synizezis peu accentué, la structure granulaire est visible.

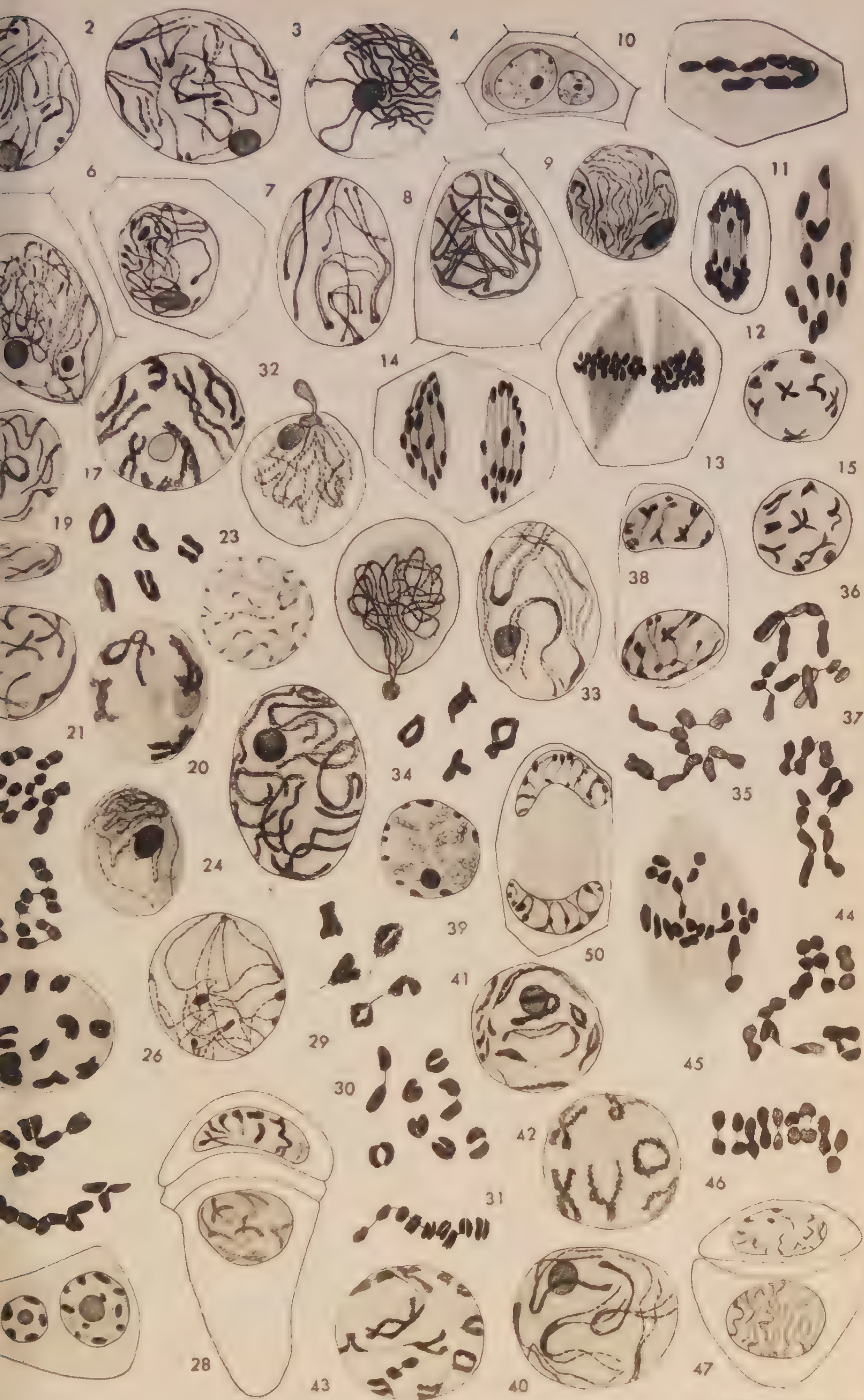
Fig. 27. — *Orchis militaris*, microspores, le réseau faible porte des chromocentres.

Fig. 28-31. — *Orchis latifolia*, 28, deuxième prophase dans la cellule-mère du sac embryonnaire ; 29, chromosomes diacinétiques, on distingue les fins tractus ; 30, chromosomes définitifs ; 31, mouvement des gemini vers la région centrale.

Fig. 32-38. — *Goodyera repens*, 32, deux aspects de cytomixie ; 33, zygonema ; 34, chromosomes définitifs ; 35 à 37, divers aspects dans la disposition des chromosomes sur les fibres fusoriales au début de la métaphase ; 38, deuxième prophase dans l'anthère.

Fig. 39-47. — *Aceras antropophora*, 39, noyau quiescent, chromocentres et bandes alvéolisées ; 40, noyau zygotène ; 41, noyau strepsitène ; 42, chromosomes diacinétiques ; 41 et 43, noyaux diplotènes, quelques couples sont reliés par de fins tractus ; 44 et 45, mouvements des chromosomes prémétaphasiques ; 46, métaphase ; 47, deuxième prophase dans l'ovule.

Fig. 48-50. — *Loroglossum hircinum*, 48, chromosomes définitifs ; 49, chromosomes à la prémétaphase ; 50, intercinèse.



Le Charles, phot. imp.

Monographie du *Batridium flavum*.

par P.-A. DANGEARD

La science est en perpétuelle évolution grâce aux nouvelles méthodes d'investigation qui permettent, soit de compléter d'anciennes descriptions, soit de les modifier dans le cas où elles seraient inexactes, soit enfin d'apporter quelques découvertes notables dans un domaine déjà exploré. Nous trouvons une constatation de ce genre pour le *Bactridium flavum* dans les observations qui vont suivre (1).

On pourra facilement s'en assurer, en consultant dans le Botaniste, une première Note consacrée aux communications protoplasmiques du *Batridium* qui a été le point de départ d'autres recherches sur ce Champignon (2). Cet organisme avait retenu notre attention, non seulement par les dimensions inusitées de son mycélium et de ses conidies, mais aussi et surtout parce qu'il nous offrait, dans sa détermination, une garantie certaine puisqu'elle était due à notre regretté ami, le professeur Saccardo.

Or, en 1916, nous avions réussi, au moyen des colorations vitales, à formuler une théorie du *vacuome* dont l'intérêt n'a fait que s'accentuer par la suite.

Ces colorations employées judicieusement et par comparaison avec d'autres méthodes seront utilisées avec profit par les cytologistes d'autant mieux qu'elles fournissent un excellent point de comparaison avec l'*Himantidium pecti-*

(1) P.-A. Dangeard, Structure et communications protoplasmiques dans le *Bactridium flavum* (*Le Botaniste*, série VII, 1900, p. 33, Pl. II).

(2) P.-A. Dangeard, La métachromatine chez les Algues et les Champignons (*Bull. Soc. Bot. de France*, 24 mars 1916, t. 63, p. 95-100).

nale, déjà étudié en détail à plusieurs reprises, parmi le Diatomées, en particulier dans *le Botaniste* (1).

D'autres notes inédites, seront aussi publiées, par l suite, sur le *Chactophora pisiformis* qui constitue, de so côté, un type très favorable à l'étude du vacuome au différents stades du développement.

Ainsi, l'*Himantidium pectinale*, le *Bactridium flavum*, l *Chaetophora pisiformis*, en représentant respectivement un Diatomée, une Mucédinée, une Algue verte, fourniront u matériel facile à se procurer et qui pourra servir utilemen dans l'étude de la cellule et de ses différentes formation

Nous avions pris comme exemple, au début, l'*Himanti dium pectinale* qui s'était montré extrêmement favorable ce genre de recherches, mais nous avions eu soin de spé cifier (2) que la théorie du vacuome pouvait s'applique déjà à un grand nombre de Champignons tels que le *Saccharomyces*, les *Oïdium*, les *Bactridium*, les *Mucors*, le *Penicillium*, les *Aspergillus*, sans compter diverses Algue comme les *Ulothrix*, les *Chaetophora*, etc.

L'*Himantidium pectinale* n'avait pas cessé depuis cett époque relativement lointaine, d'être l'objet de nos obse vations qui venaient peu à peu compléter les précédente Il est devenu ainsi possible de publier sur la structure d cette algue une sorte de petite Monographie que nou recommandons spécialement aux débutants, botanistes o zoologistes qui y trouveront une bonne description de « constituants du cytoplasme » : ceux-ci y sont représenté sous une apparence quasi schématique.

Mais n'oublions pas que dans la théorie du vacuome d 1916, nous avions cité parmi divers Champignons le *Bactridium* et parmi les Algues le *Chaetophora*.

L'idée nous est venue récemment, comme délassement des recherches de plus grande étendue, d'établir pour cha

(1) P.-A. Dangeard, Mémoire sur une Diatomée filamenteuse *Hima tidium pectinale* (*Le Botaniste*, décembre 1936).

(2) *Bull. Soc. Bot. de France*, 24 mars 1916, t. 63, p. 95-100.

un de ces organismes une sorte de Monographie pouvant être comparée à celles de l'*Himantidium pectinale* ; aujourd'hui, il sera question tout d'abord du *Bactridium flavum.*

Dans l'exposition des faits dans la recherche du rôle des éléments de la cellule, il y a un grand intérêt en général à employer la même méthode et la même terminologie sous réserve d'y apporter par la suite les retouches qui paraîtraient justifiées.

On ne peut s'attendre à rencontrer toujours sur son chemin une découverte importante, mais il ne faut jamais négliger de tenir compte d'un fait nouveau, bien qu'on le tienne parfois pour banal ou sans grand intérêt. Le même souci peut, d'ordinaire, s'appliquer à toutes les conceptions originales de l'esprit qui deviennent souvent le point de départ d'expériences d'ordre pratique ou même de fructueuses réalisations.

Les lecteurs du Botaniste savent que depuis longtemps, nous mettons ces idées en pratique dans nos travaux et que nous n'hésitons jamais à proposer les améliorations et les rectifications dont l'utilité vient à se manifester.

Nous voudrions que, dans ce nouveau petit mémoire, on puisse trouver une confirmation des avantages que présente l'étude séparée des constituants du protoplasma, à savoir les formations désignées par nous sous le nom de *nucléome*, de *plastidome*, de *cytome*, de *vacuome*, d'*ergastome*, etc.

Quelques faits nouveaux allaient permettre, en 1916, de compléter notre étude du *Bactridium flavum.*

D'une part, il a été possible d'obtenir à cette époque de belles cultures du Champignon, cultures qui nous ont permis d'observer à tout moment de l'année et à tous les stades de son développement un mycélium neuf et des conidies d'âge différent.

D'autre part, nous venions de mettre au point la théorie du vacuome qui, en s'appuyant sur la méthode des colorations vitales, allait provoquer une sorte de révolution en histologie.

C'est ainsi que nous allions pouvoir reprendre nos anciennes observations de 1900, en nous aidant, cette fois, d'un matériel très favorable et aussi d'une technique nouvelle applicable aux Champignons (1).

Mais d'autres recherches qui, à ce moment, nous paraissaient plus urgentes, ont retardé jusqu'ici la publication de cette petite monographie du *Bactridium flavum* que nous venons de terminer.

PARTIE DESCRIPTIVE

Ce Champignon a été rencontré, vers 1899, sur de vieilles souches situées à Biard, près de Poitiers, le long d'un ruisseau. Il formait à la surface du bois à moitié pourri des buissons jaunâtres formés par des amas de grosses conidies septées.

L'examen de ce *Bactridium* nous permit d'obtenir les quelques résultats intéressants consignés dans la Série III du *Botaniste*, en 1900, p. 33 ; ils concernent surtout la structure du cytoplasme, l'existence de nombreux noyaux par articles, la nature de l'appareil conidien et aussi la présence de nombreuses communications protoplasmiques soit dans le mycélium, soit dans les conidies, sans parler de la découverte d'un parasite vivant à l'intérieur des conidies et qui a reçu le nom d'*Oïdium Bactridii*, p. 45 et Pl. II.

La méthode qui nous avait fourni, à cette époque, d'excellents résultats après fixation pour mettre en évidence la structure granuleuse du cytoplasme était la suivante p. 34-35 : la préparation était traitée par les réactifs suivants : picro-carmin, 2 heures ; hématoxyline, en solution aqueuse, 1 heure ; bleu de Löfler, quelques secondes. Les préparations ainsi obtenues étaient de toute beauté : les granules, tous semblables, sont serrés les uns contre les

(1) P.-A. Dangeard, Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires et son application à l'étude des Champignons (*Le Botaniste*, série XXII, 1930).

autres et plongés dans une masse amorphe blanche ; ces granules sont colorés en rouge comme les noyaux, mais ils conservent une teinte plus faible (Pl. II, fig. 1).

Les noyaux se montraient en général comme de simples taches chromatiques p. 35 ; quelques-uns cependant laissaient apercevoir un petit nucléole central. C'est ainsi que dans les préparations, il n'est pas rare de constater qu'une petite partie du cytoplasme d'un article a traversé la perforation pour passer dans l'article supérieur, Pl. II, fig. 11 ; il ne s'agit là évidemment que d'un phénomène mécanique produit par l'action des réactifs ; mais il est certain que la chose se produit aussi sur le vivant et que, grâce à cette disposition, le cytoplasme venant du thalle tend à s'accumuler dans les articles supérieurs des conidies (*loc. cit.*, p. 45-46).

La note de 1900, relative au *Bactridium* donnait encore quelques indications sur des « sphères homogènes et denses » dont la grosseur était sensiblement supérieures à celle des noyaux : nous les avons rapportées sous le nom de coenosphères à des éléments semblables déjà décrits par nous dans les basides du *Polyporus versicolor* ; chez le *Bactridium*, quelques-unes sont au contact direct des cloisons transversales, mais d'autres se trouvent au milieu du cytoplasme.

Nous avons maintenant la conviction que ces coenosphères ne sont autre chose que des sphères oléagineuses assez grosses, faisant partie de notre ergastome.

Enfin, sur la question des noyaux, nous constations qu'ils sont beaucoup plus faciles à étudier dans les conidies que dans les hyphes : ainsi, leur nature plastique se révèle quand ils se trouvent dans un trabécule cytoplasmique ; ils s'allongent alors en navelles suivant le sens du courant ; le nucléole est très réduit et il occupe, soit le milieu, soit l'une des extrémités du noyau ainsi déformé.

Dans la note préliminaire de 1900, des vacuoles à diamètre variable avaient bien été signalées à l'intérieur du cytoplasme, sauf dans les filaments qui rampent sur le

substratum ; mais à ce moment, comme tous les cytologistes, nous n'accordions qu'une très faible importance aux vacuoles.

La membrane avait donné lieu à une observation qui conserve encore sa valeur : « La membrane des conidies est épaisse et elle paraît sensiblement homogène ; il n'en est pas de même des cloisons transversales dans lesquelles on distingue trois couches dont la médiane possède des propriétés différentes des deux autres. En effet, après une coloration au bleu Nicholson, la couche moyenne reste colorée en beau bleu, alors que les deux autres ne présentent qu'une teinte verte qui est celle de la membrane d'enveloppe des conidies.

Les cloisons transversales étaient intéressantes à étudier à un autre point de vue ; comme dans un certain nombre d'autres champignons, ces cloisons se développent sous forme d'un anneau pariétal dont l'ouverture centrale se rétrécit de plus en plus. Dans le *Bactridium flavum*, la cloison transversale reste perforée en son centre et les cytoplasmes communiquent librement ; non seulement on peut mettre en évidence le cordon protoplasmique qui traverse la perforation, mais on peut également se rendre compte de l'existence d'un courant ascendant, normal ou provoqué qui se produit dans les conidies, grâce à ces perforations » (p. 30-40).

On est frappé par la rapidité avec laquelle se produit le développement dans cette espèce, puisque, à partir d'une conidie adulte, on observe des filaments mycéliens dont la longueur arrive à dépasser 250 μ en trois jours. Sur ce mycélium, apparaissent dans le même temps, des rameaux dressés perpendiculairement et destinés à s'anastomoser en une thalle qui fournit ultérieurement l'appareil conidien et les conidies.

MODE D'OBSERVATION

Lorsqu'il s'agit d'un organisme quelconque, nous avons intérêt pour le bien connaître, à examiner en détail tous les constituants cellulaires, dont il est composé : Pour avoir une idée exacte d'une machine et de son fonctionnement, il est utile d'en démonter les rouages et de les classer par catégories afin de se rendre compte de ceux qui sont indispensables et de ceux qui ne jouent qu'un rôle accessoire ou inutile. On évitera ainsi les engouements plus ou moins injustifiés et les conclusions entachées d'erreur.

Deux méthodes principales ont été employées, depuis l'emploi généralisé du microscope, dans l'étude de la structure des cellules ; celle qui s'applique à la cellule vivante et la seconde qui dénombre les éléments qui se voient *post mortem*, et qui permet de reconnaître leur situation relative et les détails de leur structure.

Cette dernière méthode a toujours eu jusqu'ici la préférence des cytologistes et la raison en est simple, puisqu'elle permet d'apercevoir mieux que la première un plus grand nombre d'éléments différents, qui attirent l'attention, soit par leur petitesse, soit par leur degré de complication.

Il était donc assez naturel de préférer au début la seconde de ces méthodes à la première. C'est ainsi que chaque débutant, chaque chercheur, s'attachait, non sans raison, à se perfectionner dans l'usage du microtome qui permettait des coupes nombreuses en série, après inclusion dans la parafine.

On obtenait ainsi, dans les Laboratoires des collections de préparations, souvent très belles, qui avaient le grand mérite de pouvoir être conservées en excellent état et qui permettaient d'être vérifiées dans leur interprétation par des observateurs différents et nombreux.

On pouvait connaître ainsi l'action de tel fixateur, de

tel colorant, de tel mélange, de tel procédé d'application et d'en faire son profit.

L'examen direct de la cellule vivante n'a fourni, jusque dans ces dernières années, que des résultats défectueux ou tout au moins incomplets, sauf lorsqu'il s'agissait de suivre les mouvements de circulation intracellulaires ou de préciser quels sont dans les végétaux, les éléments ou chloroplastes qui sont spécialisés dans la production d'oxygène.

Il a fallu qu'une troisième méthode, celle des colorations vitales fut mise au point voulu, pour qu'elle arrivât à prendre une place honorable à côté de la précédente ; elle a regagné, en quelques années, une vogue qui, commençant avec la cellule végétale, s'est étendue, depuis nos recherches de 1916 et les suivantes aux cellules animales.

Cette méthode qui a maintenant sa technique, ses colorants sélectionnés et ses meilleurs procédés d'application, est en train de révolutionner la Cytologie.

MORPHOLOGIE GÉNÉRALE

La morphologie générale du *Bactridium flavum* comprend celle du *mycélium* et celle de l'*appareil conidien*. On ne connaît jusqu'ici aucun organe qui puisse faire soupçonner l'existence d'une reproduction sexuée ou celle d'organes analogues aux périthèces ou aux carpophores.

Le *mycélium* est constitué, ainsi que nous l'avons montré autrefois, par de gros tubes qui sont cloisonnés çà et là en longs articles ; le diamètre des filaments est de 15 à 20 μ sur une longueur de 60 à 80 μ ou davantage (fig. 11-12, Pl. VI).

Les filaments mycéliens se ramifient à l'intérieur du bois en décomposition ; ils parcourent la cavité des fibres ligneuses qu'ils remplissent complètement et on observe entre eux de nombreuses anastomoses. Les ramifications se font à angle droit et dans le cas où il est possible d'observer des filaments libres comme ceux qui se rencontrent à la

surface du substratum, il est relativement facile de reconnaître la présence de ces anastomoses.

Les articles du thalle communiquent les uns avec les autres par une perforation qui occupe le milieu des cloisons ; il est difficile de dire si la perforation est toujours complète et si le cytoplasme communique directement d'un article à l'autre. Dans tous les cas, il est certain que la chose existe assez fréquemment dans les conidies ainsi que nous avons pu le constater à nombreuses reprises.

Et plus loin (p. 380), nous ajoutions cette autre citation caractéristique : « En attendant qu'une délimitation nette soit effectuée entre les éléments divers du chondriome animal, nous avons cru sage de prendre une position d'attente et d'éviter des assimilations trop hâtives. Nous avons proposé, il y a longtemps déjà, le nom de *cytome* pour la seconde formation de la cellule végétale qui évolue à côté du *plastidome* et le terme de *cytosomes* pour les éléments qui la constituent. »

Et c'est au cours de cet examen, de cette révision chez le *Saprolegnia Thureti* et les genres voisins, que nous avions remarqué que les cytosomes sphérulaires qui se trouvaient au sommet des filaments, passaient progressivement à la forme de bâtonnets, ou s'associaient en chaînettes qui, à leur tour, donnaient naissance à de longs chondriocontes. Ainsi on observait tous les intermédiaires entre mitochondries et chondriocontes, si l'on avait le soin d'examiner les mycéliums, à partir du sommet en direction des parties de plus en plus âgées.

L'observation avait alors une réelle importance, car elle établissait une filiation entre les différents éléments du cytome.

Ces constatations de transformation directe des cytosomes arrondis avec les formes en bâtonnets ou en filaments nous sont revenues à la mémoire dans notre Mémoire actuel sur le *Bactridium flavum*. On pouvait penser que les conclusions qui étaient valables pour le cytome du *Sapro-*

legnia Thureti, s'appliqueraient également au *Bactridium flavum*.

L'*appareil conidien* est constitué par des conidies en navette qui se cloisonnent ordinairement en cinq articles dont le médian qui est renflé en gros tonneau, a une longueur de 50 μ sur une largeur de 7 μ tandis que certains de ces articles médians atteignent 85 ou 90 μ en longueur ou davantage encore sur une largeur de 40 μ environ.

Dans les quatre autres articles, deux sont insérés du côté du pédicelle et les deux autres sont placés du côté de l'extrémité terminale de la conidie qui est d'ordinaire de forme conique.

Toutefois le nombre des articles d'une conidie est susceptible de varier de *trois* à *quatre*, alors que quelques-unes assez rares en possèdent jusqu'à *six*.

La grande dimension des conidies exige, on le conçoit, une quantité relativement énorme de protoplasma qui semble faire prévoir des difficultés spéciales du côté de leur germination ; il n'en est rien cependant.

1° Les cultures du Champignon ont été réalisées en février 1916, en prenant comme point de départ de vieilles conidies celles-ci avaient conservé leur activité qui s'est manifestée immédiatement.

Sur un semis datant du 9 février 1916, avec une température du Laboratoire variant de 10 à 15°, les germinations se développaient avec vigueur : On remarquait particulièrement les cultures sur agar mélangé avec divers liquides nutritifs comme le liquide Errera, le liquide Grintzesco glucosé, le même liquide additionné de crottin de cheval, ou encore d'une quantité variable du substratum ligneux réduit en poussière.

Au bout de trois à quatre jours, c'est-à-dire à partir du 12 février 1916, on pouvait disposer, soit d'un mycélium de germinations récentes portant de nouvelles conidies, soit de conidies anciennes puisque ces dernières avaient conservé leur pouvoir germinatif.

L'appareil conidien du *Bactridium* donne naissance à des buissons ayant quelques ressemblances avec ceux des *Penicillium* (Fig. 5, Pl. V).

Les conidiophores sont situés sur des filaments mycéliens cloisonnés en articles atteignant une longueur de 100 µ ou davantage : parmi ces articles, quelques-uns sont intercalaires et stériles, alors que d'autres sont fructifères et portent les condiophores.

Ceux-ci sont formés par un court pédicelle qui se ramifie comme chez les *Penicillium* en un pinceau de rameaux supportant les conidies. Chaque rameau, isolé à sa base par une cloison, comprend deux parties, séparées par un léger étranglement, ce rameau donne naissance à la conidie ; celle-ci se comporte comme une sorte de bourgeon qui est encore, pendant son allongement, rattaché à son support de base ; puis la cloison apparaît et la conidie devenue indépendante va acquérir sa structure définitive (Fig. 5-8, Pl. V).

Les conidies qui naîtront par la suite prendront naissance aux dépens d'un second rameau qui a pris place à côté du premier ou se développera immédiatement au-dessous.

La méthode des colorations vitales allait fournir des renseignements nouveaux s'ajoutant à l'étude préliminaire du *Bacterium flavum*, telle qu'elle a été donnée en 1900.

C'est surtout dans la description du vacuome que des résultats nouveaux ont été obtenus à propos des conidies. Du côté mycélium, on ne trouve dans l'évolution de cette formation que les stades habituels (Fig. 11-13, Pl. VI) ; vacuoles avec ou sans endochromies ; virage avec le bleu de crésyl à la couleur lie de vin ; grossissement des vacuoles, puis fusion de ces vacuoles en une grande vacuole unique.

Chaque article jeune du mycélium renferme au début une douzaine environ de vacuoles à contour sphérique ou ovale ; le contenu par le bleu de crésyl est rouge homogène, ou il précipite en une ou deux endochromies de teinte violette : quelques-unes des vacuoles fusionnent et avec les autres

arrivent à se toucher ; elles ne sont séparées au contact que par une mince enveloppe et finalement se réunissent en une seule vacuole ; comme la métachromatine a progressivement disparu, cette vacuole devenue unique dans les articles âgés reste le plus souvent incolore.

Dans l'appareil conidien, la vacuome des jeunes conidies montre quelques vacuoles qui sont d'abord isolées et finissent par former en se réunissant une vacuole qui s'étend dans toute la longueur de la conidie et montre seulement quelques rares endochromies au nombre de cinq ou six.

Quand la conidie vient de bourgeonner, elle ne renferme alors qu'une vacuole et un seul noyau et souvent qu'une endochromie (Fig. 2-3, Pl. V).

Lorsque plus tard, elle va se cloisonner en *quatre* ou *cinq* articles, chacun de ceux-ci renferme dans son vacuome un nombre variable de vacuoles et de noyaux (Fig. 1-6-7, Pl. VII).

Maintenant que nous connaissons la morphologie générale du *Bactridium flavum*, le moment est venu de passer à l'étude des différentes formations que l'on rencontre dans *le thalle*, ou mycélium proprement dit, *dans l'appareil conidien* ou *conidiophore*, et dans les *conidies* elles-mêmes.

Comme nous avons affaire à un Champignon dépourvu de pigment chlorophyllien, il n'y a pas lieu de tenir compte de la formation désignée par nous sous le nom de *plastidome* dans tout l'ensemble des plantes vertes ou Chlorophytes ; il reste donc éventuellement dans la cellule, le cytoplasme donnant lieu à ses principaux constituants : *nucléome*, *vacuome*, *ergastome*, et aussi éventuellement *cytome*.

Ces diverses formations se rencontrent à l'intérieur du *cytoplasme* qui doit être envisagé comme la substance essentiellement vivante contenant tous les autres *constituants* ou formations prenant part à la vie de la cellule. Examinons donc d'abord quelques aspects de ce cytoplasme chez le *Bactridium flavum*.

Le *cytoplasme*, dans cette espèce, possède une propriété

qui nous paraît devoir mériter une certaine attention ; à certains stades et aux plus forts grossissements obtenus avec nos microscopes, il nous paraît homogène, exception faite de la présence à son intérieur des noyaux. Ce fait pose déjà une question qui n'est pas négligeable. On peut se demander si le cytoplasme ne passe point par certains stades à constitution d'apparence et de fait qui seraient complètement *homogènes*, ces stades donneraient naissance aux autres formations qui, en conséquence, appartiendraient tous à des produits de *sécrétion*, de *digestion*, d'*incorporation* ou de *désingrégation*. Ces aspects homogènes se voient en particulier dans les filaments germinatifs, en voie de croissance rapide ; pour nous prononcer, nous souhaiterions davantage d'observations et de faits précis. Mais cette question pose plusieurs problèmes de physiologie d'un intérêt puissant qui ne sauraient passer inaperçus ; il nous faudra y revenir quand il sera question du vacuome. Pour le moment, nous nous occuperons tout d'abord de deux formations, sans nous préoccuper outre mesure de leur ordre d'importance.

1° Le nucléome.

Cette formation qui, chez les *Bactridium*, doit jouer, comme chez tous les organismes vivants, un rôle essentiel dans la vie des cellules, a ici des dimensions si réduites qu'on hésite vraiment à leur attribuer toutes les fonctions dont on les sucharge habituellement.

La structure du noyau chez la plupart des Champignons est souvent réduite à 1 ou 2 μ. Il est impossible, dans de pareilles conditions, de chercher à préciser chez le *Bactridium flavum* dont les éléments nucléaires ne dépassent guère ces proportions minuscules, leur structure, par comparaison avec les *chromosomes* et le *spirème* des noyaux de taille moyenne que l'on connaît en détail, soit à l'état quiescent, soit à l'état de division dans les animaux et dans les végétaux.

Nous devons donc nous borner ici à constater que les noyaux du *Bactridium* sont nombreux par articles, dans le mycélium et dans les conidies.

On doit noter cependant, car la chose n'est pas sans intérêt que chaque bourgeon qui apparaît sur le conidiophore ne possède au début de sa formation qu'un *seul noyau* accompagné d'une seule *vacuole.*

Ainsi, tout article d'un thalle coenocytique stérile ou fructifié débute par un *stade uninucléé* chez les *Bactridium* et nous savons qu'il en est de même chez les *Penicillium.*

L'existence de ce stade uninucléé dans un certain nombre de Mucédinées appartenant à ce genre *Penicillium*, montre comment s'établit dans plusieurs espèces de ce genre l'apparition de la sexualité par fusion entre *deux noyaux.*

Nous en avons décrit, dans *le Botaniste*, un exemple des plus démonstratifs en ce qui concerne le *Penicillium.*

La possibilité d'un tel comportement n'est pas exclue chez les *Bactridium.* Puisqu'il est acquis que les cultures de ce champignon peuvent être réalisées facilement sur différents milieux et très rapidement, il est indiqué de poursuivre de nombreuses recherches en ce sens et d'essayer de provoquer dans ces cultures l'apparition de périthèces.

Mais, pour ce qui est des phénomènes se rattachant à la division des noyaux, à leur structure et à leur fusion éventuelle, il ne faut pas trop escompter, avec les moyens d'action dont on dispose, sur des résultats décisifs.

En effet, comment peut-on se représenter ces noyaux *minuscules* ? Simplement, comme de très petites vésicules arrondies entourées d'une membrane nucléaire, avec un nucléole chromatique plus ou moins central, entouré ou non par un nombre variable de granulations irrégulières. Le contour de ces noyaux est parfois en forme de navette d'une longueur de 5 à 6 μ ; ils ressemblent quelque peu, dans ce cas à un fuseau de mitose ; mais en réalité, il s'agit sans doute, de noyaux malléables, déformés par étirement, sous

l'influence de pressions locales s'effectuant à l'intérieur du cytoplasme.

Avec des matériaux nucléaires aussi rudimentaires d'apparence, il est impossible de formuler des hypothèses de grande envergure. Cependant, leur présence dans les filaments mycéliens semble indiquer leur utilité, d'autant plus qu'ils sont là à disponibilité du fonctionnement vital.

Les difficultés d'interprétation ne doivent pas entraîner à leur suite le découragement.

Rappelons ce qui est arrivé quand il s'est agi d'extirper ou de détruire le noyau d'une cellule vivante, pour en déduire ce qu'il adviendrait des deux portions isolées.

A l'époque où Balbiani faisait ses belles expériences sur la *mérotomie* des Amibes et des Infusoires, on était anxieux, dans les Laboratoires, des conclusions qui en découleraient ; celles-ci fournirent la preuve que des deux portions isolées de la cellule, celle qui était dépourvue de noyau mourait rapidement, alors que la seconde, avec son noyau, conservait son activité locomotrice pendant quelque temps.

Une autre méthode se montra préférable à la précédente ; mais elle exigeait la destruction complète du noyau unique dans une Amibe par un *parasite intranucléaire* ; nous fûmes assez heureux pour pouvoir l'appliquer et démontrer par cette méthode de la *nucléophagie* ou *karyophagie*, qu'on pouvait réussir à observer pendant plusieurs jours, dans une culture, notre grosse Amibe qui, non seulement avait conservé ses mouvements, mais avait continué d'accomplir ses fonctions d'*assimilation* sur les *aliments ingérés*. Nous avions, dans ces expériences, donné la preuve que le noyau intervient dans le *mouvement*, et dans l'*incorporation* des aliments — il s'agissait d'Euglènes — et qu'il avait déterminé une augmentation notable de la *survie*, par un début marqué d'action digestive.

Maintenant que presque tous les Laboratoires possèdent des appareils permettant de faire disparaître le noyau unique d'une cellule, soit par extraction, soit par destruc-

tion au moyen de piqûres, la méthode de *karyotomie*, nous semble appelée à un grand avenir.

La méthode par *plasmolyse*, dans laquelle on arrive dans une cellule à noyau unique, à séparer en deux portions distinctes le protoplasma d'une cellule, a donné de son côté quelques résultats qui ne sont pas négligeables.

Mais actuellement, les chercheurs disposent de moyens d'action bien supérieurs aux précédents pour juger du rôle du *nucléome* chez les plantes.

En effet, nous avons réussi à démontrer au moyen des colorations vitales et de la méthode classique des fixateurs usuels et des réactifs classiques à fournir la preuve que chez *toutes les algues bleues ou Phycochromacées* le *noyau manque complètement, sans doute possible.*

Les *Physiologistes* et les *Cytologistes* ont là un merveilleux champ d'expérience, car parmi les très nombreuses espèces de genres et d'espèces de ce grand groupe, à côté de celles qui, avec des cellules ayant comme certains *Stigonema* 15 μ de diamètre sont très évoluées, il en est d'autres qui n'ont qu'un ou deux μ.

Le gros Mémoire consacré par nous à ces Algues bleues il y a plusieurs années déjà a commencé à paraître dans le volume XXX du *Botaniste* qui sera à la disposition de nos abonnés, sitôt que son impression sera terminée.

Pour juger du noyau et de son rôle, il sera bon de consulter un Mémoire de Kuster intitulé *Problèmes de Cytologie végétale et de Pathologie.*

2° Le vacuome.

Cette formation va être étudiée d'abord dans le thalle provenant à partir des cultures, de la germination des colonies (Fig. 1-5, Pl. VI).

Ces filaments ont un diamètre de 15 à 20 μ sur une longueur de 60 à 80 μ. Le cytoplasme qui, au début, semble homogène, renferme une dizaine de vacuoles (Fig. 10, Pl. VI).

Ces vacuoles, arrondies ou à contour elliptique, se colorent vitalement par le bleu de crésyl en rose, ou en violet. Ordinairement, on observe à leur intérieur une grosse endochromie de teinte plus foncée.

Au-dessus du premier article (fig. 10), nous trouvons, dans cette germination, trois grandes vacuoles de 5 à 7 μ encore dépourvues de ses endochromes, et nous arrivons à la constitution ordinaire du mycélium en pleine croissance.

Les tubes mycéliens germinatifs ne se forment pas toujours aux extrémités d'une conidie terminale. On en voit assez souvent apparaître plusieurs (Fig. 1-4, Pl. VI) sur un article intermédiaire. Mais il est moins fréquent d'en rencontrer (Fig. 5, Pl. VI) une demi-douzaine ou davantage ayant pris part conjointement au développement du même thalle à partir de la même extrémité. Le point de sortie d'un filament germinatif se fait ordinairement à l'une ou l'autre des deux extrémités de la conidie, là où est sans doute la partie la moins résistante de la membrane.

Quel que soit l'endroit où se produit la perforation, les réserves qui sont contenues dans la conidie auront toujours la possibilité de communiquer avec le thalle, car toutes les cloisons transversales qui séparent les articles sont perforées et établissent une communication directe d'une extrémité à l'autre.

Les différentes réserves qui passent ainsi des conidies dans le mycélium subissent une digestion préliminaire qui accompagne l'apport d'eau de la culture et qui se fait remarquer par l'homogénéité du cytoplasme (Fig. 1, Pl. V). Cette transformation devient surtout apparente par la disparition rapide des nombreux corpuscules chromatiques contenus dans le vacuome.

Nous reproduisons, à titre d'exemple assez curieux, un article de conidie dans lequel a pénétré un gros filament germinatif qui a traversé en ligne droite suivant l'axe un article de conidie. On voit qu'ayant pénétré, sans doute à travers le pore plus ou moins médian, il est allé s'appuyer

sur la cloison opposée. Ne pouvant franchir l'obstacle il s'est replié sur la cloison opposée. On remarquera que pendant sa traversée dans la conidie, il a effectué son trajet, non dans le cytoplasme que l'on retrouve groupé d'un côté, mais dans le vacuome ; aussi est-il sensiblement courbé sous l'influence de la pression due à l'obstacle rencontré (Fig. 15, Pl. VI).

Dans l'ensemble du mycélium des cultures, le vacuome se montre avec des aspects différents qui correspondent au mode de répartition dans les articles de la quantité d'eau existant dans la culture, du nombre des vacuoles et aussi de l'abondance de la métachromatine accumulée dans les vacuoles et qui correspond sensiblement aux corpuscules colorables obtenus par précipitation.

On remarquera aussi qu'un unique filament germinatif peut donner naissance à un seul thalle, alors que d'autres thalles ont comme point de départ une seule conidie (Fig. 16, Pl. VI). Il est vrai qu'avec l'existence des nombreuses anastomoses et les perforations des cloisons il importe peu pour l'espèce qu'elle soit coenocytique ou non.

Ce qui serait intéressant, c'est de savoir la cause qui détermine une localisation de l'activité de croissance et des points de végétation. Approximativement, on peut les fixer là où se trouvent les articles remplis de cytoplasme homogène ou presque.

Nous avons observé dans les jeunes cultures de *Bactridium* au début de leur croissance des filaments mycéliens ayant un diamètre de 10 à 12 μ dont certains articles avaient de 100 à 125 μ de longueur. Leur vacuome est constitué fréquemment par une vacuole unique qu'une couche de cytoplasme mince sépare de la membrane. On pourrait croire que les corpuscules métachromatiques qui sont nombreux dans cette zone pariétale n'appartiennent pas au vacuome, mais au cytoplasme, lequel, dans ces longs articles, n'a pas, du côté interne, de limites très nettes. Cependant, si la coloration vitale est poursuivie jusqu'à la mort du

mycélium, on constate que les endochromies qui étaient les unes de couleur rouge et bleue sont maintenant situées dans le vacuome au contact même des trabécules cytoplasmiques : le cytoplasme a pris lui-même une teinte bleue, alors que les endochromies conservaient la couleur rouge ou lie de vin qui leur est habituelle.

Dans les articles du thalle qui sont de taille plus réduite et dont la longueur ne dépasse pas ordinairement 70 μ, le vacuome se montre avec des vacuoles nettement limitées au nombre d'une dizaine et dans ces conditions, on peut distinguer celles qui n'ont pas d'endochromies et celles qui en ont une ou plusieurs. On observe alors que ce sont les articles dans lesquels il y a une quantité notable de cytoplasme homogène ou pseudohomogène qui possèdent des vacuoles nettement délimitées. En coloration vitale, au bleu de crésyl, elles montrent plusieurs aspects (Fig. 11-13, Pl. VI) : 1° *Toute la vacuole est colorée en rose sans chromie* ; 2° *Elle contient en son centre une endochromie plus foncée* ; 3° *La chromie seule se colore.*

Il arrive aussi que la coloration au bleu de crésyl après s'être portée pendant un temps plus ou moins long sur le stade 3 passe au stade 2.

Le nombre des chromies qui se trouve dans une vacuole varie peu dans le mycélium : on en trouve une seule ordinairement qui est centrale (Fig. 11, Pl. VI).

Les deux stades extrêmes de l'état du vacuome dans des articles différents et éloignés l'un de l'autre sont représentés Fig. 7 et 8, Pl. VI, par un premier article contenant au milieu d'un cytoplasme fortement granuleux, une vingtaine de vacuoles ou davantage ; ces vacuoles arrivaient à se toucher et à fusionner totalement ou partiellement en perdant leur métachromatine.

Nous venons de tracer aussi exactement qu'il nous a été possible l'ensemble de la circulation de la métachromatine à l'intérieur du vacuome en utilisant les colorations vitales au bleu de crésyl : le nombre des corpuscules précipités

dans chaque article du mycélium et leur volume permet de se rendre compte approximativement de la quantité qui se forme, qui est ensuite emmagasinée, ou qui est utilisée en des endroits différents.

Ces résultats peuvent être améliorés, mais nous avons la conviction que, dans ce dernier cas, et avec les données nouvelles que nous allons fournir plus loin, en étudiant l'ergastome, nous sommes sur la voie qui permettra aux biologistes de mieux comprendre les principales manifestations vitales de la cellule.

Aussi loin de négliger l'étude du vacuome dans l'appareil conidien, nous allons nous efforcer d'en faire connaître les détails d'abord dans son mode de naissance, ensuite dans la constitution des conidies adultes.

L'appareil conidien du *Bachidium* se forme dans les cultures, en surface du milieu nutritif sur des filaments mycéliens ayant la taille et l'apparence d'un mycelium ordinaire, sauf que le cytoplasme des articles est homogène ou finement granuleux (fig. 6, Pl. V).

Les articles qui portent les conidiophores sont de longueur variable : les uns atteignent une longueur de 100 μ ou davantage sur une largeur moyenne de 6 à 7 μ. Les articles portant les conidiophores sont plus ou moins rapprochés les uns des autres : ils contiennent soit une grande vacuole unique, soit plusieurs ; ces conidiophores sont disposés par plages d'étendue variable.

Dans ces vacuoles, le bleu de crésyl ne colore pas ordinairement de chromies précipitées ; à la base, on remarque seulement une teinte rouge due à la métachromatine dissoute qui s'y trouve, en faible quantité. Beaucoup de ces vacuoles restent d'ailleurs incolores. Quant au cytoplasme qui limite ces vacuoles, il est d'apparence homogène ou formé par une poussière de microsomes ayant moins de 1 μ.

Les conidiophores sont d'âge différents : certains supportent déjà un bouquet de conidies ; d'autres en sont

encore au début de la formation de la première conidie (fig. 5, 6, 7 et 8, Pl. V).

Si maintenant, nous suivons l'évolution du vacuome dans le conidiophore et les très jeunes conidies voici ce que nous observons : le jeune bourgeon, à contour ovale a un diamétre de 7 μ sur une longueur de 20 μ ; il ne renferme qu'une seule vacuole centrale, contenant une petite endochromie (fig. 2, Pl. V). Cette conidie ne tarde pas à grossir et à s'allonger, en même temps que la cellule de base.

Ensuite, sa vacuole s'enrichit en métachromatine : les corpuscules métachromatiques sont passés au nombre de trois à quatre. Un peu plus tard, on assiste à une fragmentation en vacuoles plus nombreuses et de taille inégale de la conidie qui s'allonge et finit par atteindre 80 μ en moyenne (fig. 6, Pl. V).

La grande vacuole centrale, accompagnée par plusieurs autres à la base, montre une nombre variable de corpuscules métachromatiques précipités en endochromies de grosseur variable. Leur localisation semble indiquer que la métachromatine tend à s'accumuler dans ces conidies, alors que la cloison basilaire n'est pas encore formée (fig. 6, Pl. V).

La partie du conidiophore qui supporte le bourgeon, montre bien en coloration vitale une teinte rose rouge dans plusieurs grandes vacuoles, mais il ne se produit pas de précipitation avec le bleu de crésyl.

Alors que cette partie basilaire du conidiophore ne s'est pas encore différenciée à son extrémité en bourgeon conidien, elle renferme dans une grande vacuole de nombreuses chromies rouges pour quelques unes situées vers la base, il est impossible de préciser si elles sont dans le cytoplasme ou dans la vacuole et si certaines, entourées d'une zone claire ne sont pas des vacuoles minuscules en voie de formation.

Il n'est donc pas impossible que la métachromatine qui émigre du mycélium puisse être précipitée en fins granules par les colorants vitaux au moment de son passage dans le cytoplasme.

Dans la figure 8, on remarque certains détails qui autorisent à penser que dans le pédicelle du conidiophore, il est possible là où la métachromatine est encore à l'état dissous dans le cytoplasme de mettre cette substance en évidence, par le moyen du bleu de crésyl pendant sa migration : elle apparaît alors en granules roses et le cytoplasme offre une légère teinte bleue.

En observant à la surface d'un milieu nutritif dont le semis date de trois ou quatre jours au maximum, on assiste à la production de nombreuses conidies dont quelques-unes sont encore rattachées à l'extrémité de leur conidiophore. Il est bon, après avoir utilisé un faible grossissement de se servir d'un bon apochromatique qui montrera, dans d'excellentes conditions, la prédominance, en certains points de la métachromatine, son utilisation et sa répartition dans les articles. On verra aussi la distribution du cytoplasme dans les mêmes articles avec les microsomes, les liposomes, les oléosomes et l'appauvrissement très net résultant de l'apport en substances nutritives qui s'accumulent dans la masse énorme des conidies. C'est cette masse considérable des conidies dont il faut maintenant étudier la structure, la constitution dans leurs relations avec les phénomènes de germination.

La conidie (fig. 6, Pl. V) est encore dépourvue de cloisons, elle va nous servir comme point de départ ; de nombreux changements vont s'y produire très rapidement à la suite du cloisonnement qui a pour résultat la formation de cinq articles en général par conidie (fig. 1, Pl. VII).

Le nombre des conidies qui se forment dans les cultures étant considérable on a donc toute latitude pour étudier les changements et transformations qui se produisent dans chacun des articles résultant du cloisonnement. On ne peut manquer d'être surpris de voir la quantité énorme de cytoplasme transmise aux conidies par l'intermédiaire du mycélium et des conidiophores ; tandis que le *vacuome* y apporte sa *métachromatine* et ses *corpuscules métachromatiques* l'*er-*

gastome fournit une augmentation du *cytoplasme* et de ses *liposomes*, voire aussi des liposphères.

Ces rapides transformations à grande distance seraient particulièrement surprenantes, si l'on ne savait que les cloisons dans le *Bactridium* restent perforées en leur centre, établissant une communication directe dans les filaments à partir du début de la culture.

On s'explique d'ailleurs assez difficilement, pourquoi dans une même conidie, la structure dans chaque segment est-elle souvent si différente. Le meilleur parti, en l'occurence est de décrire du mieux possible les faits observés, quitte à essayer de les interpréter plus tard.

Ce qui frappe d'abord, c'est la quantité d'eau transportée en quelques heures dans le segment terminal d'une conidie : cette eau renferme de la métachromatine dissoute dans les trois ou quatre grandes vacuoles distinctes, limitées par les cytoplasme granuleux (fig. 5, Pl. VII).

Le segment du dessous ne possède qu'une seule grande vacuole qui a reçu un commencement de plasmolyse.

La fig. 6, Pl. VII montre un vacuome identique, sans corpuscules métachromatiques.

La fig. 3 indique, avec une coloration vitale au bleu de crésyl, un état différent : il existe de nombreuses petites vacuoles rouges dans le segment antérieur limitées par un cytoplasme finement granuleux ; le segment situé au-dessous renferme aussi de ces petites vacuoles ayant 2,5 μ, mais il en existe une autre ayant 15 μ et renfermant quelques corpuscules métachromatiques assez gros (fig. 3).

La fig. 2, Pl. VII représente un segment de conidie d'aspect différent ; les vacuoles exactement sphériques sont de grosseur différente allant jusqu'à 20 μ, alors que les plus petites n'atteignent pas deux μ ; ces vacuoles sont remarquables à cause de leur endochromie qui est relativement énorme et de belle couleur bleue. Par contre, nous avons noté dans la même préparation des vacuoles semblables toutes de teinte bleue, mais sans endochromie. Les noyaux,

dans ce segment étaient visibles, dans un cytoplasme très finement granuleux.

Les segments qui sont au stade inactif renferment souvent dans leur grande vacuole centrale un grand nombre de corpuscules métachromatiques qui virent du rouge foncé à la couleur lie de vin, mais cet état (fig. 4, Pl. VII) va se modifier très vite, lorsque la pénétration de l'eau pénètre annonçant les débuts de la germination des conidies.

Les contours de la vacuole se modifient et celle-ci commence à se fragmenter en îlots irréguliers plus ou moins séparés contenant un certain nombre de chromes rouges. Dans d'autres segments, ces chromies sont bleues (fig. 4, Pl. VII).

Les mêmes changements du vacuome apparaissent simultanément ou successivement dans tous les segments de la conidie destinée à germer ; les segments médians, destinés à rester stériles perdent de leur cytoplasme et la métachromatine passe dans les articles terminaux fig. 9, Pl. VI.

Nous avons remarqué qu'avec le rouge neutre, il arrive que les vacuoles petites (2 μ) ou plus grosses (5 μ) se colorent entièrement en teinte orange fig. 6, Pl. VI.

La structure rencontrée occasionnellement dans certaines conidies ayant perdu la plus grande partie de leur cytoplasme nous a fortement intrigué, il s'agissait de longs cordons homogènes dirigés suivant l'axe de la colonie et entremêlés ; ils semblaient se recourber en atteignant le sommet ; leur diamètre variait de 1,5 à 2 μ ; dans les conidies cloisonnées, quelques-uns de ces cordons, au nombre de trois ou quatre, traversaient la perforation occupant le milieu de la cloison. Le cytoplasme pariétal de ces conidies, réduit à l'état de simples amas de granules permettait seule de distinguer confusément deux formations séparées dans le contenu cellulaire ; l'*ergastome* et le *vacuome* (fig. 8, 10 et 11, Pl. VII).

Dès lors, le problème était résolu à notre grande satisfaction car nous en obtenions confirmation bientôt en nous reportant à une observation antérieure concernant le va-

cuome interne du pédicelle d'un sporogone de *Saprolegnia* (1). Tout le contenu vacuolaire du canal central portant le sporogone était rempli de la substance colloïde incolore et celle-ci montrait des plissements identiques à ceux que nous venions de rencontrer chez le Bactridium.

Un autre problème allait se poser devant nous ; mais si la solution que nous lui avons donnée est exacte — et nous avons lieu d'en être personnellement convaincu, une nouvelle découverte importante s'ajoute à celles qui ont trait à la structure de la cellule végétale et par voie de conséquence à celle de la cellule animale.

Il s'agit là aussi de cordons, comme tout à l'heure à propos des conidies ; ils semblaient faire partie d'une formation qui depuis plusieurs années a beaucoup trop fait parler d'elle. On devine qu'il s'agit du fameux *chondriome* et des *mitochondries*. Si la solution du problème n'est pas entièrement résolue, elle nous ouvre cependant des horizons nouveaux dans l'interprétation de la structure de la cellule.

Le problème pour les Cytologistes comportait deux parties complètement distinctes, mais qui sont encore restées sans recevoir aucune réponse satisfaisante. Tous les cytologistes se demandent si les trop fameuses *mitochondries* ou *chondriosomes* sont des éléments *vivants* se multipliant exclusivement par *bipartition* ou si ces éléments sont des produits de *sécrétion* provenant uniquement du cytoplasme. Les opinions sont partagées, et les lecteurs du Botaniste connaissent notre point de vue sur ce sujet d'importance capitale en biologie générale.

Nous avons rangé dans l'*ergastome* tous les corpuscules pour lesquels on aurait fourni la *preuve qu'ils doivent leur existence à une sécrétion du cytoplasme et ne possèdent par eux-mêmes aucune autonomie.*

Nous avons réservé le nom de *cytome* à tous les éléments

(1) P.-A. Dangeard, Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires et son application à l'étude des Champignons (*Le Botaniste*, série XXII, 1930).

qui possèdent une *autonomie réelle*, c'est-à-dire *se multiplient par division comme les noyaux*, mais l'existence même de cette formation est encore douteuse ; quand on a devant soi des éléments aussi petits que certaines granulations il est souvent impossible d'observer une origine par bipartition.

Un examen très complet de *conidies* et du *mycélium* nous a permis de reconnaître, dans le *Bactridium*, des différences d'aspect très grandes entre le cytoplasme selon qu'il est traité par la méthode des *colorations vitales* ou par l'*hématoxyline ferrique* précédée des fixateurs ordinaires.

Nous venons de voir comment se comporte le vacuome dans son évolution et comment à certains moments, on rencontre à son intérieur ordinairement granuleux de gros cordons dont nous avons pu établir avec certitude l'origine aux dépens de la substance colloïdale vacuolaire.

Mais, à l'intérieur de certains articles, sur des préparations fixées de préférence à l'hématoxyline ferrique, nous avions noté, dans le cytoplasme des formes en sphères, en bâtonnets, en filaments sinueux pouvant se prolonger sur de grandes longueurs ; ces éléments étaient colorés en brun ou en noir (fig. 7, 12, 14, Pl. VII).

Ces aspects divers aperçus dans nos préparations avaient de quoi nous rendre perplexe. Ces longs filaments rencontrés souvent au contact du cytoplasme de bordure de la vacuole, devaient-ils être assimilés aux cordons occupant nettement le vacuome dans les préparations utilisant les colorations vitales ?

Cette première difficulté fut écartée pour les raisons suivantes. En effet, tous les articles des conidies qui contenaient ces filaments ou ces longs bâtonnets n'avaient que 1 μ de diamètre et ils montraient toutes les transitions avec les éléments bacillaires situés dans le cytoplasme granuleux (fig. 13, Pl. VII). Il ne pouvait donc être question que d'une formation cytoplasmique, telle que l'*ergastome* ou une formation *d'accompagnement mais distincte*.

La réponse, si elle est basée sur des preuves, aura une très grande importance en histologie : aussi, allons-nous lui consacrer, en abordant l'examen de l'*ergastome* du Bactridium toute notre attention.

3º L'ergastome.

Dans les observations relatives à l'*ergastome*, on obtient de meilleurs résultats en se servant des fixations à l'acide osmique, soit seules, soit accompagnées de l'hématoxyline ferrique, avec inclusion dans glycérine étendue.

L'ergastome apparaît dans le mycélium et les conidies avec des cultures de trois ou quatre jours et aussi avec des cultures plus âgées. Nous savons déjà que le cytoplasme montre une structure homogène, sans inclusions nettes, lors des phénomènes de germination et de croissance.

Sans doute, une formation comme le *nucléome* peut toujours être mise en évidence dans ce cytoplasme homogène (fig. 1, Pl. V) : il en serait de même pour toute formation cellulaire analogue comme par exemple le *plastidome* de la cellule végétale. Mais il n'est plus ainsi lorsque les éléments de cette formation se multiplient par une simple sécrétion du cytoplasme.

Nous avons un bon exemple de ce dernier cas chez le *Bactridium flavum*. Il suffit, pour vérifier le fait, de suivre pas à pas les transformations qui apparaissent successivement dans un même segment ou qui résultent de la comparaison de plusieurs articles à des stades différents.

Tout d'abord, on voit dans la masse du cytoplasme une quantité de fines granulations dont le diamètre est inférieur à 1 μ et qui arrivent à mesurer 1,5 μ ; ces sphérules sont les liposomes qui sont en contact étroit les uns avec les autres, soit dans le mycélium, soit dans les conidies (fig. 1-2, Pl. V ; fig. 10, 16, Pl. VI ; fig. 1-3, Pl. VI).

On peut s'assurer que ces liposomes sont bien de nature oléagineuse ; il suffit de soumettre quelques instants les

articles à l'action de l'acide osmique pour les colorer en brun ou en noir. En prolongeant une demi-heure ou davantage, on obtient la fusion en sphères plus grosses et noires (fig. 12-14, Pl. VII).

On peut faire disparaître également l'individualité des liposomes après l'emploi du rouge neutre qui avait coloré en rouge la membrane épaisse d'un article médian ; le cytoplasme de granuleux qu'il était, avait repris sa structure homogène et l'huile s'était accumulée, dans un espace annulaire rendu libre en cinq glosses oléosphères dont l'une atteignait un diamètre de 7 µ environ (fig. 11, Pl. V).

On est donc autorisé par ce qui précède à considérer l'*ergastome* du *Bactridium flavum* comme une réserve d'huile en continuelle transformation dans les cultures sous l'action de *lipases* ou *ferments* particulièrement actifs.

Rien n'empêche, pour faciliter les descriptions. d'employer les termes de *microsomes* pour les très fines granulations de 1 µ environ, celui de *liposomes* pour les corpuscules de taille moyenne ayant 2 µ et de *oléosphères* pour les plus grosses gouttes d'huile.

Il n'est pas rare de rencontrer dans les articles d'une même conidie (fig. 1, Pl. VII) un cytoplasme entièrement bourré de liposomes ordinaires et contenant parmi ceux-ci quelques gouttes d'huile ; on reconnaît facilement ces derniers, car leur contour au lieu de rester lisse revêt souvent comme chez l'*Himantidium* un aspect ondulé.

Ce mélange des corpuscules gras ne se voit que rarement et nous ne le citons que pour mémoire.

Nous sommes plus étonné d'avoir à signaler l'absence d'une circulation cytoplasmique que nous avons si souvent signalée et décrire en détail chez de nombreuses plantes en nous aidant des microsomes. On ne rencontre, dans le *Bactridium* que le mouvement brownien qui non seulement s'applique aux microsomes et liposomes, mais s'étend aussi aux chromies du vacuome.

Si l'on n'observe chez le *Bactridium* aucune circulation

des microscomes ou des liposomes dans le cytoplasme, il n'en est pas moins vrai que le mouvement brownien excite dans beaucoup d'articles ; toutes les granulations d'un article peuvent se montrer agitées jusque dans la profondeur de ces déplacements limités qui sont caractéristiques. Ainsi, dans la fig. 5, Pl. VII, le mouvement brownien est commun à l'ensemble des granulations dans le segment terminal de la conidie, alors qu'il n'existe pas dans l'article sous-jacent :

Les jeunes conidies que l'on rencontre et qui sont à un stade de croissance dans les cultures montrent parfois dans leur contenu un aspect qui, examiné avec le bleu de crésyl, n'a pas été sans nous intriguer ; celui de la fig. 9, Pl. V, possède dans le cytoplasme de la couche pariétale un certain nombre de corpuscules restés incolores ; ce sont des liposomes qui ne paraissent pas être passés d'abord par la taille réduite des microsomes. Intérieurement se trouve dans chaque segment le vacuome avec des limites plus ou moins nettes : ce vacuome renferme des corpuscules métachromatiques ordinaires rouges ; leur nombre est à peine d'une demi-douzaine. D'autres éléments vacuolaires, colorés en beau bleu se montrent tantôt indépendants et tantôt reliés entre eux en une sorte de réseau irrégulier. Cette électivité de la métachromatine, cette teinte rouge ou blanc des corpuscules métachromatiques, selon qu'ils se trouvent en milieu acide, basique ou neutre, n'a pas lieu de nous surprendre ; nous en connaissons de nombreux exemples ; celui-ci cependant est un peu spécial et méritait peut-être d'arrêter un instant notre attention. Dans une autre conidie du même âge et de la même préparation, on n'observait pas une semblable distribution de la métachromatine ; les corpuscules et les éléments rouges et bleus étaient distribués irrégulièrement dans tous le contenu cytoplasmique des articles.

D'après ce qui précède, l'ergastome du *Bactridium flavium* doit être considéré comme formé par une accumula-

tion de liposomes extrêmement nombreux dans le cytoplasme ; ces liposomes constituent un aliment de croissance particulièrement utilisé et en continuelle transformation. Le glycogène qui est un hydrate de carbone de formule joue certainement un rôle très important dans ces transformations ; il en est de même indubitablement des sucres.

Nous empruntons à une note récente de M. Jacques Houget (1) les renseignements qui suivent et qui bien que s'appliquant aux germinations du Ricin doivent sans doute pouvoir servir aux germinations du *Bactridium.*

« La conversion des graisses en hydrates de carbone a établi avec le plus de netteté lors de la germination des graines à réserves grasses. Tous les auteurs ont noté que des sucres se forment alors en même temps que les réserves lipidiques s'épuisent et que le développement de la plantule progresse. Mais le mécanisme de cette transformation reste toujours inconnu et on ne sait pas encore avec certitude à quels glucides les graisses donnent d'abord naissance, *loc. cit.*, p. 387 ».

Les conclusions de l'auteur sont les suivantes : « L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure que, au cours de la germination, les réserves grasses de la graine sont transformées par l'albumen en saccharose ; celui-ci est scindé ensuite en glucose et lévalose. Ces sucres réducteurs sont alors absorbés par les cotylédons et distribués à la plantule qui les utilise pour sa croissance et son entretien et met le surplus en réserve sous forme d'amidon, *loc. cit.*, p. 388 ».

Il nous paraît qu'il y aura tout intérêt pour les biologistes à profiter des comparaisons à faire, dans le domaine de la physiologie, entre la germination de plantes supérieures comme le Ricin et de Mucédinées comme le *Bactridium flavum.*

La facilité des cultures, la rapidité avec laquelle les coni-

(1) Jacques Houget, Sur la formation des glucides au cours de la germination du Ricin (*Comptes rendus Acad. Sc.*, t. 215, p. 387-388).

dies entrent en germination, la possibilité d'utiliser des cultures sur milieux nutritifs connus, celle de les conserver indéfiniment aseptiques permettent d'espérer que le *Bactridium flavum* n'a pas dit son dernier mot comme élément précieux de recherches biologiques.

Nous voyons, dans ce court aperçu les raisons qui nous guident dans cette petite Monographie et nous font accorder un intérêt spécial aux formations cellulaires, à leur fonctionnement, et à leurs transformations.

Essayons, de ce point de vue, de voir ce qu'il faut penser de l'existence chez les *Bactridium* du *cytome* et des *cytosomes.*

Le problème est d'importance et nous allons essayer de le résoudre sans tarder davantage ; il se pose de la manière suivante.

Le problème qui s'est posé pour nous avec acuité, était de savoir si, à côté de l'*ergastome*, il n'y avait pas une seconde formation d'aspect semblable, mais différente par son rôle dans la structure cellulaire.

L'ergastome chez le *Bactridium flavum* donne lieu en effet à des difficultés d'interprétation nombreuses et délicates ; il a cependant été possible d'en résoudre quelques-unes.

Il faut d'abord s'attacher à l'exactitude des descriptions avant d'en tirer des déductions définitives.

Nous avons vu que le cytoplasme se présente sous plusieurs états qui sont en rapport avec les produits de sécrétion venant de l'ergastome.

1° Le cytoplasme est au stade homogène surtout dans les jeunes filaments qui sont en germination et qui sont examinés sur le vivant. Déjà, si on les observe en coloration vitale, avec le bleu de crésyl, on s'aperçoit que dans le vacuome il y a eu précipitation de chromies qui sont au nombre de une ou deux par vacuoles (fig. 7, Pl. VI ; mais le cytoplasme est encore lui-même à peu près complètement homogène.

2° Le cytoplasme se montre ensuite au stade très finement granuleux qui représente la structure ordinaire soit dans le mycélium, soit dans les conidies. On dirait qu'il y a sécrétion de sphérules *extrêmement petites*, dont la taille est inférieure à 1 μ ; celles-ci atteignent un diamètre de 1,2 μ environ et sont au contact ; ils sont fréquemment agités de trépidations, mais ils ne subissent pas de déplacements appréciables ; on arrive au stade ordinaire.

Les sphérules qui brunissent facilement et atteignent un diamètre de 2 μ par l'osmium peuvent être considérées comme des liposomes, c'est-à-dire, comme le produit d'une sécrétion oléagineuse par le cytoplasme ; l'ensemble est devenu progressivement noir. Nous passons ainsi insensiblement du stade de *cytoplasme* quasi *homogène* au stade de cytoplasme ordinaire.

Si l'on a réalisé une coloration vitale au bleu de crésyl on se trouve en présence, dans le cytoplasme de deux formations nettement distinctes par leur origine et leurs propriétés ; l'ergastome d'une part avec ses liposomes sphérulaires et le vacuome d'autre part, avec ses chromies vacuolaires colorées en rouge ou en violet.

Jusqu'ici, aucune difficulté sérieuse d'interprétation, ce qui constitue déjà un résultat d'importance ; mais l'embarras commence lorsqu'un métabolisme plus ou moins actif va apparaître, soit dans les conidies en voie de germination, soit dans le mycélium en voie de croissance et devenu de plus en plus âgé.

Le métabolisme se manifeste par des modifications qui interviennent dans l'ergastome et qui sont plus ou moins concomitantes avec celles qui ont lieu dans le vacuome.

Ainsi les liposomes ne sont plus tous sphérulaires : à côté de ceux qui ont conservé leur forme normale, on en voit d'autre ayant l'aspect de courts *bâtonnets* ou de virgules. Le cytoplasme maintenant n'est plus régulièrement granuleux ; on constate qu'il est mélangé à des éléments dont les unes seraient granuleuses, alors que les autres feraient

partie de filaments plus ou moins longs ayant de 3 à 30 μ,

De nombreux cytologistes n'ayant étudié que la structire de la cellule animale, seraient sans doute tentés d'attribuer ces différents éléments à un chondriome normal ; il y aurait déjà dans cette conception un progrès réel sur l'idée que l'on se fait parfois du chondriome, en le considérant comme une formation vivante au même titre que le *plastidome* ou le nucléome.

Notre opinion est qu'il s'agit bien, dans le *Bactridium flavum* d'un ergastome dont les liposomes sous l'action des lipases sont devenus malléables, s'unissent en chaînettes et fusionnent, mélangés avec ceux qui sont encore globuleux ou sphériques.

Mais, dans une préparation fixée à l'acide osmique, colorée à l'hématoxyline et montée à la glycérine, nous avons vu quelques pseudochondriocontes très allongés ayant 20 μ et davantage incorporés aux éléments sphérulaires ou bacillaires : ils se trouvaient de préférence, localisés en surface, au voisinage du vacuome (fig. 12-14, Pl. VII).

Alors le problème se trouve en bonne voie de solution ; il n'existe plus qu'une seule difficulté à se demander si le *Bactridium flavum* ne possède qu'une seule formation qui est l'*ergastome*, formation bien définie et dont le rôle s'avère connu. On bien au contraire s'il renferme deux formations d'aspect identique.

Disons tout de suite que la première opinion s'impose pour le *Bactridium*, mais qu'elle n'est valable actuellement que pour cette seule espèce : pour être généralisée, elle devra donner lieu à de nouvelles observations. Il ne serait pas impossible même qu'à côté du *nucléome*, du *plastidome*, du *vacuome*, de l'*ergastome*, les cytologistes ne découvrent une formation constituée d'éléments *vivants autonomes* et se multipliant par bipartition ou par fragmentation, ce que nous avons désigné autrefois sous le nom de *cytome* et de *cytosomes*.

Le problème reste en suspens à la fois pour la cellule animale et la cellule végétale.

La solution, en ce qui concerne le *Bactridium flavum* n'offre plus pour nous le moindre doute à la suite de l'étude faite de ce Champignon par la méthode des colorations vitales.

Les éléments qui existent dans les articles et qui se présentent selon l'état de leur évolution, sous la forme de fines poussières, de spérules, de courts bâtonnets, de filaments entremêlés, de virgules, de filaments de longueur variable, appartiennent certainement à une même formation que ceux que l'on peut mettre en évidence dans les mêmes articles, au moyen de l'acide osmique, de l'hématoxyline ferrique ou des autres méthodes, employées couramment en histologie.

Avec l'emploi des deux méthodes, il est possible de rattacher la forme des éléments à un point de départ commun, les *microsomes* provenant de la sécrétion du cytoplasme et donnant les *liposomes* qui constituent la masse des granules et fournissent en même temps la réserve en matières grasses des cellules. Enfin apparaît le groupement des liposomes en chaînettes plus ou moins longues qui sont à l'origine de ces filaments d'apparence bacillaire ou serpentiforme (fig. 3, 6, 7, 12, 14, Pl. VII).

Lorsque les phénomènes de germination se produisent, les réserves d'huile et de matières grasses interviennent dans le développement des jeunes thalles et des conidies, grâce à l'eau fournie au thalle par le vacuome qui parcourt de son côté une évolution parallèle des vacuoles et de la métachromatine.

Quand nous avons essayé pour la cellule de grouper les éléments dont elle est composée en formations distinctes ayant chacune un rôle à remplir dans le métabolisme, nous n'avons pas eu l'intention de négliger les relations étroites qui s'établissent entre elles, pendant le fonctionnement vital. En démontrant précédemment chez de nombreuses

espèces l'existence des formations cellulaires que l'on peut mettre en évidence dans les cellules, nous n'avons pas manqué de les considérer par ordre d'importance, sans négliger aucun détail susceptible d'être plus tard utilisé par les chercheurs, avides de découvertes. Ces formations, par le fait qu'elles constituent des rouages de la vie sujets à transformations, à échanges, ont des éléments possédant une Morphologie sujette à varier dans une large mesure. Malheureusement, nos connaissances actuelles sur les cellules des animaux, des végétaux ne permettent pas encore d'être fixé sur le degré de dépendance entre elles de ces principales formations. Ainsi, nous nous demandons encore à quel degré l'existence du *plastidome* chez les cellules végétales intervient dans les transformations qui se succèdent dans l'*ergastome* des Champignons. L'embarras est encore plus grand quand il s'agit du *nucléome* ; les Cytologistes ont pu accumuler leurs efforts ; l'absence du noyau chez tout un groupe d'Algues n'est pas sans les désorienter. Ils ne pouvaient prévoir que les Phycochromacées parmi lesquelles se trouvent des espèces très *évoluées*, ne possédaient aucune trace de noyau.

Au fond, nous ne connaissons que deux éléments indispensables à la vie de la cellule, le *cytoplasme* et son *vacuome* ; l'*ergastome* ne représente que les déchets du combustible et sa récupération toujours problématique.

Quant à la nécessité d'un noyau pour assurer le fonctionnement vital d'une cellule, on sait mieux maintenant à quoi s'en tenir sur plusieurs points importants. On consultera avec fruit sur ce sujet le Mémoire de Kuster, paru en 1937 (1). Et aussi le mémoire dans lequel nous avons autrefois étudié les moyens dont on dispose, pour supprimer le noyau sans traumatisme à l'aide d'un parasite vivant à l'intérieur et absorbant son contenu.

Kuster dans son étude p. 375-383 emploie la mé-

(1) E. Kuster. — Problèmes de Cytologie végétale et de Pathologie de constition cellulaire.

thode de Van Wisseling qui consiste à centrifuger la cellule avant sa division, c'est-à-dire à chasser le noyau du centre. La formation de la membrane, ayant lieu malgré tout vers le milieu de la cellule, l'une des deux cellules est dépourvue de noyau, tandis que l'autre possède deux fois plus de substance nucléaire. On obtient donc ainsi des cellules sans noyau de grandeur normale et d'autre part des cellules à deux noyaux.

Les résultats essentiels auxquels a conduit l'étude des cellules sans noyau sont les suivants :

1. — Les cellules sans noyau continuent à vivre ; plusieurs semaines chez les Conjuguées, plusieurs mois chez les *Acetabularia* (Hammerling).

2. — Les cellules sans noyau sont capables de croître, très peu chez les *Spirogyra* (Van Wisseling) beaucoup chez les *Acetabularia* (Hammerling).

3. — Les cellules sans noyau sont capables de photosynthèse.

4. — Des fragments de cellule sans noyau peuvent produire du tannin et de l'anthocyane (Katic).

5. — Les fragments sans noyau de nombreuses espèces de cellule perdent la propriété de former une membrane et de s'en entourer ; chez d'autres espèces, cette propriété est conservée (Klebs, Palla, Acqua).

6. — Le degré de perméabilité des fragments de cellules avec ou sans noyau reste le même (Hoffmann).

Kuster envisage d'autre part le cas ou des cellules deviennent exceptionnellement riches en substance nucléaire et les expériences de Marchal où ce savant a réussi à obtenir des sporophytes de Mousses non pas diploïdes mais tétraploïdes.

Il rappelle également que les « burdoms » de Winkler constituent une preuve certaine que des cellules somatiques d'espèces différentes peuvent se fusionner et se développer.

Kuster nous rapporte que dans son institut de Gies-

sen, MICHEL a récemment pratiqué, dans des proportions inconnues la greffe hétéroplastique des protoplasmes, c'est-à-dire une greffe réalisant la fusion de protoplasme d'espèces différentes ; il a réussi à isoler et à faire fusionner des protoplastes diploïdes d'espèces nullement apparentées. Il reste maintenant à trouver des cellules qui, après séparation et fusion, continuent à vivre longtemps encore et de plus soient capables de se diviser et de se développer.

Le Mémoire de KUSTER est très suggestif et fait entrevoir les nombreux problèmes de génétique qui se posent à propos de l'hérédité : la bibliographie est des plus intéressantes à consulter, p. 382-383.

PLANCHE V

Le Bactridium flavum.

Fig. 1. — Conidie âgée en germination. Les noyaux sont nombreux dans un cytoplasme d'apparence homogène et incolore. On les aperçoit surtout dans les deux gros filaments germinatifs.

Fig. 2-4. — Jeunes bourgeons en voie de croissance. La vacuole unique grossit et le nombre des endochromies précipitées est maintenant d'une demi-douzaine.

Fig. 5. — Un conidiophore donnant naissance à un bouquet de conidies qui ne sont pas encore cloisonnées.

Fig. 6. — Une conidie qui va se cloisonner en plusieurs articles après séparation du conidiophore par une cloison de base : V, vacuole ; E, endochromies.

Fig. 7. — Une conidie avec quelques rares liposomes dans le cytoplasme.

Fig. 8. — Début d'un conidiophore sur le mycélium ; un jeune bourgeon.

Fig. 9. — Une conidie provenant d'une jeune culture. Structure comprenant un cytoplasme homogène et des formations rouges arrondies qui sont des chromies, ou des endochromies, des liposomes qui restent incolores avec le bleu de crésyl et sont situées dans le cytoplasme et d'autres formations de couleur bleues de forme assez irrégulière et de nature vacuolaire. Nous avons retrouvé d'autres éléments semblables dans de gros filaments de mycélium où nous avons constaté que le suc vacuolaire est précipitée par le bleu de crésyl en corpuscules *rouges* ou *bleus* qui sont des endochromies : à côté de ces endochromies, on rencontre aussi des zones ou des bandes étroites bleues ou rouges caractéristiques.

Fig. 10. — Eléments de même nature rouges et bleus à forme irrégulière surtout parmi ces derniers.

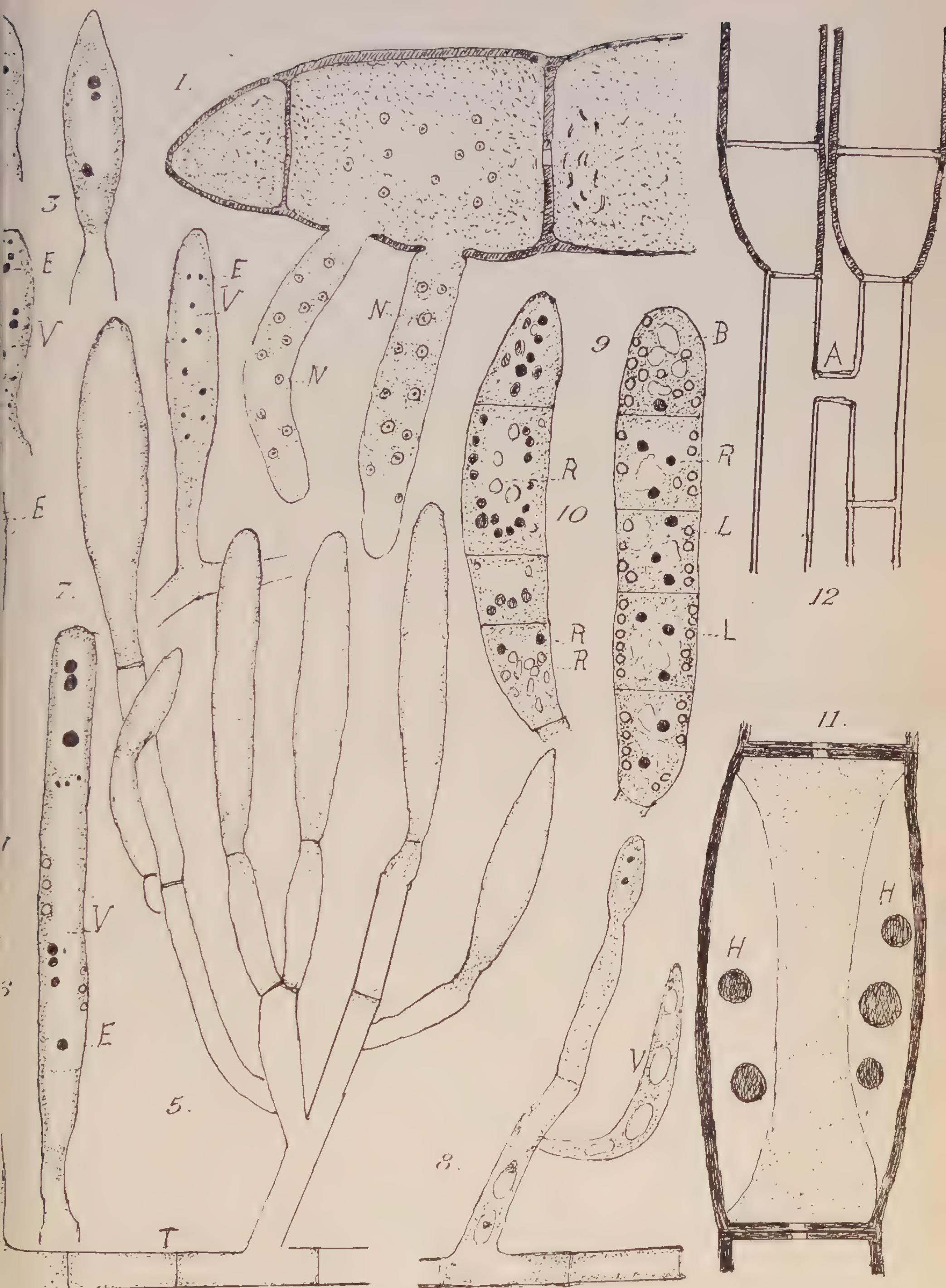

1.
3
E
V
E
V
N
N
9
B
R
10
R
L
L
R
R
A
12
E
7.
11.
H
H
V
V
E
5.
8.
T

PLANCHE VI

Le Bactridium flavum.

Fig. 1-4. — Cultures en milieu nutritif, de vieilles conidies, faites le 8 février à la température de 10 à 15° ; les germinations très vigoureuses ont de trois à quatre jours.

Fig. 5. — Jeunes thalles de *Bactridium* provenant d'un segment conidien ; quelques anastomoses.

Fig. 6. — Coloration vitale au bleu de crésyl. Les vacuoles de l'article terminal sont remplies de métachromatine ; les vacuoles du second article sont plus petites avec chacune une endochromie.

Fig. 7. — Nombreuses vacuoles V avec précipitation d'une ou plusieurs petites endochromies dans un filament mycélien.

Fig. 8. — Gros filament mycélien âgé avec un suc vacuolaire abondant et quelques petites endochromies.

Fig. 9. — Belle germination. Gros filament germinatif ; nombreuses vacuoles avec endochromies dans l'article de base.

Fig. 10. — L'article au-dessus montre 3 grandes vacuoles sans précipitation.

Fig. 11-13. — Trois états différents des vacuoles.

Fig. 14. — Germination d'une conidie dont le cytoplasma est d'apparence homogène.

Fig. 15. — Filament germant à l'intérieur d'un article.

Fig. 16. — Filament germinatif ramifié, à cytoplasme d'apparence homogène.

Fig. 17. — Un article de ce filament en coloration vitale.

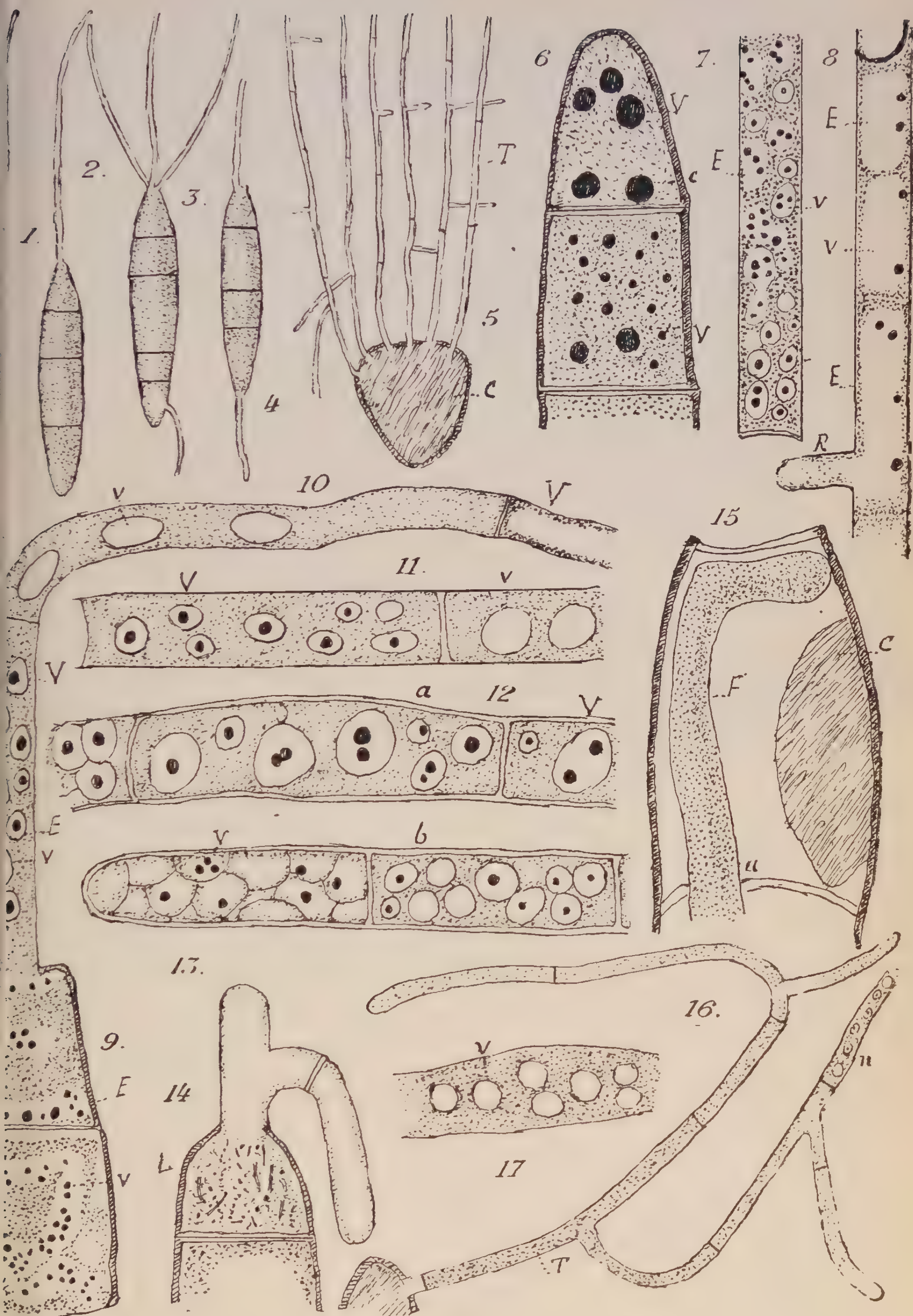

1.
2.
3.
4
5
T
C
6
V
c
V
7.
E
v
8
E
V
E
R
10
V
v
11.
V
v
V
a
12
V
E
v
b
v
13.
9.
E
v
14
L
15
C
F
u
16.
n
v
17
T

PLANCHE VII

Le Bactridium flavum.

Fig. 1. — Une conidie après coloration vitale au bleu de crésyl, chaque cloison montre une perforation au centre. Dans l'article terminal, le cytoplasme est d'apparence homogène avec quelques petits globules d'huile et des vacuoles de 2 μ ; dans les deux articles au-dessous, le cytoplasme est granuleux, avec liposomes au contact, alors que les vacuoles de grandeur variable et assez mal délimitées fusionnent entre elles.

Fig. 2. — Deux articles d'une conidie ; en haut, petites vacuoles V ; plus bas, cytoplasme granuleux à liposomes au contact avec vacuoles et endochromies.

Fig. 3. — Dans l'article inférieur coloré à l'hématoxyline, on remarque de nombreuses petites vacuoles et une grande ayant plusieurs endochromies ; les liposomes arrondis sont transformés pour la plupart en courts bâtonnets.

Fig. 4. — Segment intermédiaire d'une conidie. Vacuome et endochromies ; ergastome et liposomes.

Fig. 5. — Vacuome et ergastome.

Fig. 6. — Liposomes en bâtonnets. Hématoxyline ferrique après fixation à l'alcool.

Fig. 7. — Ici, tous les liposomes, après coloration à l'hématoxyline ont l'aspect bacillaire.

Fig. 8. — Les cordons du vacuome traversent la ponctuation centrale et se recourbent.

Fig. 9. — Un cordon recourbé en crosse.

Fig. 10-11. — Deux aspects différents des cordons ; amas, çà et là, des liposomes.

Fig. 12. — Aspect filamenteux.

Fig. 13. — Les cordons ont un fin diamètre.

Fig. 14. — Aspect de l'ergastome.

Fig. 15. — Vacuome et endochromies ; ergastome et liposomes.



2
3
4
5.
6
7.
8
9
10
11
12
13.
14
15
H
V
E
L
C
B

PLANCHE VIII

Le Bactridium flavum.

Fig. 1. — Article terminal d'une conidie en coloration vitale avec cytoplasme d'apparence homogène ; formation des vacuoles V qui débutent par un fin granule de métachromatine rouge entouré d'une mince couche incolore.

Fig. 2. — Les vacuoles sont nettement délimitées du cytoplasme.

Fig. 3-4. — Les liposomes ont conservé la forme granuleuse ou ont pris la forme bacillaire, ou plus rarement celle de chaînettes.

Fig. 5. — Fixation à l'alcool d'un filament mycélien ; grandes vacuoles déformées ; quelques endochromies.

Fig. 6. — Segment intermédiaire d'une conidie en coloration par l'hématoxyline ferrique ; tous les liposomes L en sphères ou en bâtonnets bruns.

Fig. 7. — Segment intermédiaire. Structure comme Fig. 1.

Fig. 8. — Belle fixation à l'acide osmique ; V, vacuoles ; N, noyaux.

Fig. 9. — Id. Liposomes arrondis ou filamenteux et grosses sphères oléagineuses ; structure après fixation à l'acide osmique et montage à la glycérine.

Fig. 10. — Coloration vitale au bleu de crésyl de vacuome dans les trois segments d'une conidie. Vacuoles avec ou sans endochromies. Cytoplasme homogène ou granuleux.

Fig. 11. — Belle coloration du vacuome et de l'ergastome en coloration vitale au bleu de crésyl.

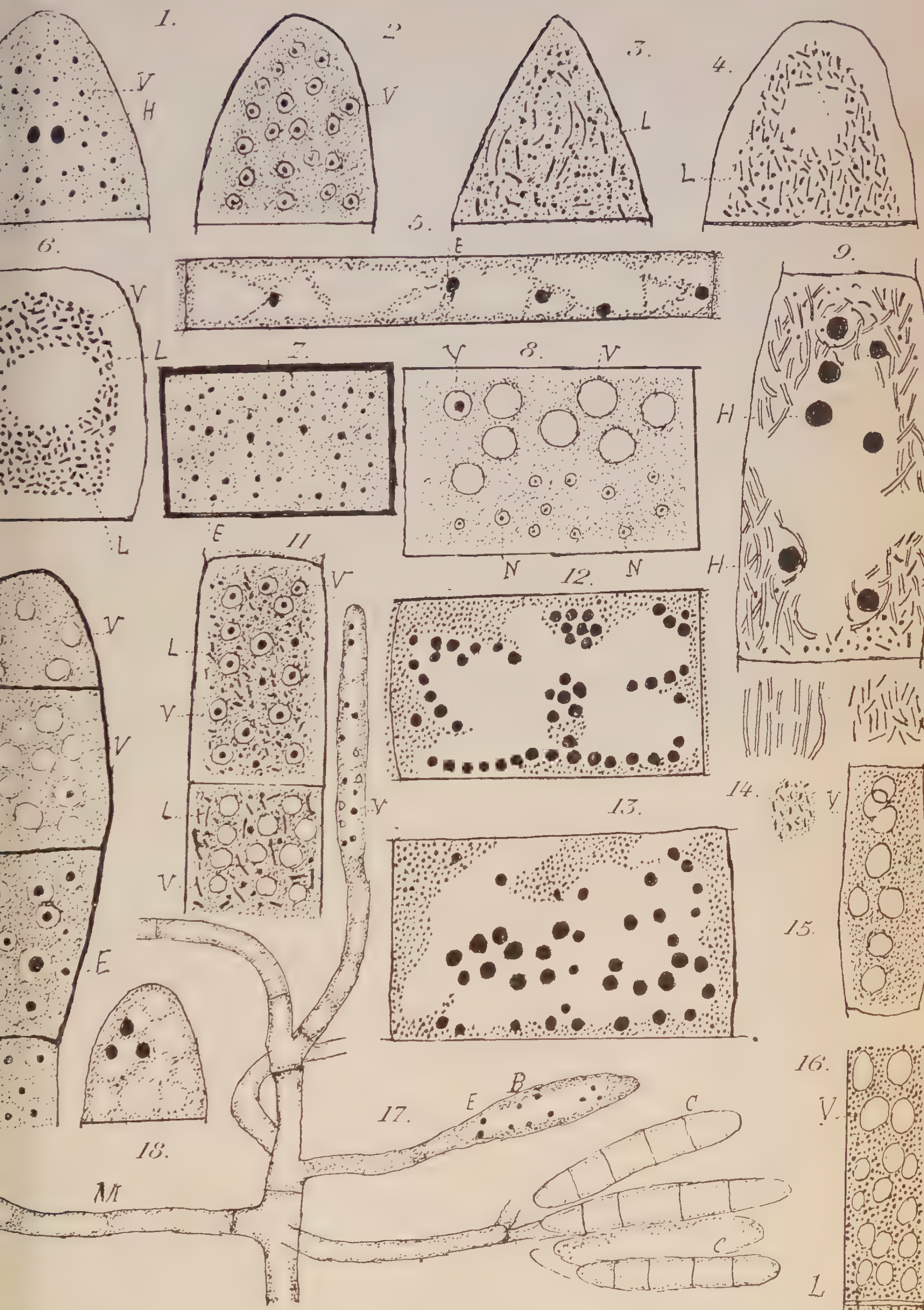
Fig. 12-13. — Segment médian : dans l'une les endochromies sont rouges et dans l'autre elles sont bleues.

Fig. 14. — Trois aspects différents des éléments l'ergastome après coloration à l'hématoxyline.

Fig. 15 et 16. — Articles du mycélium. Vacuoles sans endochromies. Ergastome avec liposomes normaux.

Fig. 17. — Début de fructification dans une culture de quatre jours.

Fig. 18. — Chromies après fixation à l'alcool dans les vacuoles et disposées à leur surface interne.


1.
2
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
11
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
V
H
L
E
N
M
B
C

Le Gérant : P. A. DANGEARD.

753. — Imp. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris (N° 31.0939). — 8-43.
Autorisation N° 14.413.

P.-A. DANGEARD (1862-1947)

« Le Botaniste » *est en deuil : son Directeur et fondateur* P.-A. Dangeard *est décédé le 10 novembre dernier, dans sa propriété de Ségrie (Sarthe), à l'âge de 84 ans.*

C'est en 1888, alors qu'il était Chef de travaux à la Faculté des Sciences de Caen que mon père avait fondé son Journal. C'était alors une entreprise bien audacieuse pour un jeune homme qui venait à peine de soutenir sa Thèse de Doctorat en Sorbonne. Heureusement il sut obtenir peu à peu la confiance et l'appui de savants influents comme Ed. Bornet *et* L. Guignard. *La Revue connut cependant des heures difficiles et il ne fallut pas moins pour l'animer que les ressources de travail et la foi de son fondateur.*

Travailleur infatigable, P.-A. Dangeard *avait été, avec son élève* Sappin-Trouffy, *un des pionniers de l'Histologie des Champignons. Son nom restera attaché à l'histoire de la découverte de la sexualité des Champignons supérieurs.*

P.-A. Dangeard *était d'un caractère énergique et il défendait ses idées scientifiques avec beaucoup de conviction ; il avait la passion des études microscopiques et il avait consacré bien des loisirs à l'étude des Protistes qui avait fait l'objet de ses premiers travaux. Seule, je crois bien, la chasse pendant la saison, était capable de l'arracher à ses patientes recherches.*

Depuis deux ans, affaibli par une grave opération, il avait dû renoncer peu à peu au travail scientifique et il nous avait confié la direction du « Botaniste » *dont la publication était déjà partiellement arrêtée en raison des difficultés nées de la guerre. Les embarras de l'après-guerre n'étant pas moins grands peut-être, nous comptons sur les fidèles amis du* « Botaniste » *et les collaborateurs anciens ou nouveaux pour nous aider dans nos responsabilités nouvelles.*

Introduction aux fascicules IV à VI de la série XXXII

par Pierre DANGEARD

Les fascicules IV à VI de la série XXXII du *Botaniste* paraissent avec un certain retard : en effet les fascicules I à III ont été imprimés en octobre 1945, tandis que la fin du volume portera la date de 1947. Afin d'éviter des frais supplémentaires, nous avions retardé l'envoi aux abonnés des fascicules I à III jusqu'à ce que la série fût complétée.

Les fascicules qui terminent la série XXXII contiennent un mémoire de notre élève M. Jean EYMÉ sur la Cytologie des Muscinées. Depuis plusieurs années, M. EYMÉ poursuit des recherches dans notre laboratoire sur le groupe des Bryophytes et le mémoire qui paraît aujourd'hui représente les premiers résultats obtenus par lui et présentés devant la Faculté des Sciences de Bordeaux comme Diplôme d'Etudes Supérieures. Nous espérons que les recherches en cours pourront bientôt faire l'objet d'une thèse de Doctorat.

Dans le mémoire actuel, J. EYMÉ apporte une intéressante contribution à l'étude des chloroplastes et de leur évolution dans l'appareil végétatif des Mousses. Profitant des facilités offertes dans cette étude par les cellules foliaires des genres *Mnium*, *Hookeria*, *Funaria*, il aborde la question de la structure des chloroplastes. Enfin, il étudie longuement ces éléments encore énigmatiques que sont les formations filamenteuses de la cellule des Mousses. Le travail est complété par des observations encore fragmentaires sur les organes reproducteurs (spores et leurs germinations, archégone, anthéridies). Les résultats des recherches de J. EYMÉ nous font bien augurer de ce que celui-ci nous apportera dans un prochain avenir.

Contribution à la Cytologie de quelques Muscinées

par Jean EYMÉ

INTRODUCTION

La cytologie des Muscinées, telle que je l'envisage au cours de ce travail, a pour objet l'étude de leur cellule, abstraction faite du noyau. De nombreux travaux ont vu le jour sur cet important sujet, surtout depuis les quarante dernières années ; c'est en effet durant cette période, grâce aux recherches minutieuses de P.-A. DANGEARD, de GUILLIERMOND et de leurs élèves, que la cytologie descriptive devint une science précise. Les principales acquisitions réalisées dans ce domaine, furent d'abord obtenues grâce à l'observation des végétaux supérieurs. Mais la pratique des méthodes modernes de l'histologie ainsi que l'extension des techniques mitochondriales permirent d'étudier le contenu cellulaire de l'ensemble des végétaux. C'est ainsi que les Bryophytes, qui avaient déjà donné lieu à des études morphologiques et anatomiques très poussées, retinrent l'attention des cytologistes. Il faut noter à cet égard les noms de SAPEHIN, SCHERRER, CHALAUD, MOTTE, GAVAUDAN... dont les travaux d'ensemble, quoique bien incomplets, ont eu le mérite de tracer les grandes lignes de cette étude. A la suite de ces travaux importants, des études et des mises au point de BOWEN, P. A. et P. DANGEARD, DOMBRAY, RIVETT, SENJANIVONA, WEIER, HEITZ, etc... vinrent enrichir le nombre des faits observés et souvent aboutirent à des interprétations contradictoires. Mais malgré

les résultats obtenus par tous ces auteurs, de nombreux faits demandent encore à être décrits et précisés.

C'est à cette fin que tend le présent travail, entrepris voici deux ans sur les conseils et sous la direction de Monsieur le Professeur P. DANGEARD. Cette étude fut en effet commencée dans son laboratoire à la suite de récoltes de Bryophytes que j'effectuai dans les environs de Bordeaux.

Monsieur DANGEARD me fit en effet comprendre l'intérêt qu'il y aurait à reprendre et à compléter en particulier les résultats obtenus par J. MOTTE sur la cellule apicale des Muscinées, sujet qu'il avait lui-même abordé très brièvement autrefois dans une note préliminaire sur le *Fontinalis*. En même temps, Monsieur DANGEARD qui poursuivait alors des recherches sur la structure des chloroplastes en général, me montra combien la cellule des Muscinées était favorable à cette étude des constituants plastidaires. Il m'encouragea à approfondir cette question délicate sur laquelle il avait déjà réuni de nombreux documents. Il apparut aussi au cours de nos entretiens au laboratoire que la spore des mousses et sa germination était encore peu connue au point de vue cytologique. C'est ainsi que le plan de notre travail se trouva à peu près tracé.

Que Monsieur DANGEARD veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il lui a sans cesse porté. Il n'a jamais cessé, en effet, au cours de ces années, de me faire bénéficier de ses précieux conseils ou même de m'associer à des observations inédites. Je dois également des sentiments de respectueuse gratitude à Monsieur MALVESIN-FABRE qui m'a fait profiter journellement de son expérience des techniques histologiques qui me furent nécessaires. Je ne saurais également oublier que c'est grâce à sa grande connaissance de la flore girondine que j'ai débuté dans l'étude systématique des Bryophytes dont notre région possède de remarquables stations.

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS

Chapitre premier

QUELQUES DONNÉES GÉNÉRALES SUR LA BIOLOGIE DES BRYOPHYTES

Les mousses constituent avec les Hépatiques les deux classes de l'embranchement des *Muscinées* ou *Bryophytes*. Ces végétaux constituent un des groupes les plus homogènes du Règne Végétal. Alors que chez les Phanérogames et les Cryptogames vasculaires, la plante feuillée provient du développement de l'œuf, chez les Muscinées elle est au contraire engendrée par la spore ; elle est donc comparable au prothalle des autres Archégoniates. Tout comme lui, elle porte les organes sexuels et c'est sur elle que l'œuf se forme, puis se développe en parasite. La plante feuillée constitue donc la génération gamétophytique haploïde. Quant à la génération sporophytique, diploïde pendant la totalité de sa croissance et de sa maturité, elle apparaît en parasite sur elle et en dépend pour une grande part.

Appareil végétatif.

La tige feuillée : choisissons comme exemple une mousse abondante aux environs de Bordeaux : *Pogonatum aloides*. Le gamétophyte est constitué par une tige feuillée, dressée, de 1 cm. et d'un diamètre de 1 mm. environ. Elle porte de nombreuses feuilles régulières peu découpées, et insérées par une large base sur la tige. Cette feuille, ou « Phylli-

die » de Morren, relativement épaisse puisqu'elle est constituée de plusieurs assises de cellules, ne présente rien de comparable à une nervure, mais porte en son milieu un renforcement axial. A sa région d'attache à la tige, de nombreux poils l'accompagnent.

La structure de la tige, souvent appelée axe, est simple ; elle a une structure cellulaire et ne comporte pas de vaisseaux ; mais chez *Pogonatum*, comme chez bien d'autres espèces, le parenchyme chlorophyllien qui la constitue fondamentalement, est différencié en deux zones d'aspect différent : 1° une zone annulaire périphérique constituée de cellules relativement grandes ; 2° au centre, un massif de cellules plus petites et allongées suivant l'axe de la tige ; ces cellules jouent dans la tige de la Mousse un rôle conducteur. Remarquons que les assises périphériques ne sont point des épidermes comparables à ceux des végétaux supérieurs et qu'on n'y voit jamais de stomates. De plus, la partie souterraine de la tige porte de longs poils dont la structure et le rôle sont tout à fait comparables à ceux des rhizoïdes chez les Prothalles des Fougères.

La cellule apicale.

Une coupe longitudinale axiale dans le bourgeon d'une tige de Mousse, permet de voir la cellule qui est à l'extrémité supérieure de cet organe. C'est une grande cellule en forme de pyramide triangulaire, au sommet tourné vers le bas, et dont les cloisonnements successifs sur ses faces latérales engendrent toutes les autres cellules de l'axe.

La tige feuillée des Mousses, si différente de celle des végétaux supérieurs quant à sa structure, en diffère donc également par son mode d'accroissement.

Anthéridie.

Vers le mois de février, les tiges de *Pogonatum* cessent de croître ; l'extrémité de certaines d'entre elles prend bientôt

l'aspect d'une coupe plus large que la tige elle-même. C'est sur cette sorte de plateau que vont se différencier les anthéridies, en même temps que vont se développer des formations stériles ou paraphyses.

Après avoir atteint une certaine taille, le tissu interne de l'anthéridie, ou tissu spermatogène, va se différencier en vue de la production de spermatides qui, par simple transformation, donneront les spermatozoïdes ou anthérozoïdes.

Archégone et œuf.

Au sommet d'autres pieds, l'espèce étant dioïque, le bourgeon terminal reste semblable à celui des tiges en simple croissance : c'est là que sont contenus les organes femelles. Les archégones sont portés comme les anthéridies par un court pédicelle. La partie renflée recèle le gamète ♀ ou oosphère. A côté des espèces dioïques comme *Pogonatum aloides* où archégones et anthéridies sont portés par des pieds différents, il existe des mousses monoïques comme *Atrichum undulatum* où une même tige porte les deux types d'organes sexuels.

Sporogone.

Le sporophyte issu du cloisonnement et de la prolifération de l'œuf fécondé, ne se détache pas du gamétophyte ; il y demeure implanté par un tissu que, en considération de son « rôle physiologique », Motte désigne sous le nom de « placenta ». Ce terme ne paraît pas très heureux car en anatomie végétale le placenta appartient à l'organe ♀, est antérieur à la gamétogénèse et préexiste par conséquent à toute fécondation ; d'autre part, il n'a aucun rôle de digestion et ne remplit aucune fonction active dans la fixation de l'embryon. Ici, au contraire, nous avons affaire à un tissu provenant de l'œuf fécondé ; il n'est comparable qu'au suçoir ou pied de l'embryon des Fougères s'enfonçant dans

le jeune sporophyte. Par analogie à la fois d'origine et de fonction, le terme de « suçoir » aurait été plus judicieusement choisi.

Cet organe est surmonté par un pédicelle nommé « soie » qui porte la capsule. Celle-ci est le plus souvent en forme de cône renversé et renferme les spores : c'est donc un sporange. L'élargissement du pédicelle au niveau de la capsule constitue le col où l'on constate quelquefois la présence de stomates (*Orthotrichum*). La capsule est surmontée de la coiffe, constituée par la partie supérieure de l'archégone soulevée par l'embryon.

Structure de la capsule.

Au cours de la maturation, dans l'archesporium, région déterminée en forme de manchon au sein du sporange, se différencient les initiales sporogènes. Les divisions successives de ces dernières vont engendrer les spores.

Le tissu sporogène, constitué de sporogonies, va être, en dernier lieu, le siège d'une réduction chromatique ; chaque « sporocyte » ou sporogonie de dernière génération, donne ainsi une tétrade de spores haploïdes.

Spore-protonéma.

Les spores, libérées de la capsule après sa déhiscence, sont en général unicellulaire, lorsqu'elles tombent sur le substratum pour y germer. Si les conditions sont favorables, elles donnent naissance au protonéma, constitué de filaments algoïdes cloisonnés. Ce sont des filaments chlorophylliens, dont certaines cellules engendrent de nombreuses ramifications ; d'autres isolent les initiales des tiges feuillées.

Dans ce modeste travail je n'envisagerai que l'étude du gamétophyte des Mousses. Mais avant d'examiner en détail la constitution cytologique des divers organes qui le

constituent, faisons une revue rapide des différents constituants cytoplasmiques dont on aura à s'occuper par la suite.

Chapitre II

LA CELLULE ET SES CONSTITUANTS

Comme chez les autres végétaux, on admet aujourd'hui que le cytoplasme des Bryophytes n'a pas de structure définie. Il apparaît incolore et de réfringence nettement différente de celle de l'eau et du suc vacuolaire. C'est un hydrogel complexe que les moindres variations externes peuvent altérer. C'est ainsi qu'il se présente sous un aspect homogène dans une cellule de feuille ou de filament protonémique : mais il peut devenir granuleux si l'observation se prolonge dans des conditions trop éloignées de celles de la vie normale.

Tout comme chez les Végétaux supérieurs ou les Champignons, un mouvement continu règne dans la masse du cytoplasme. C'est la « cyclose » si apparente dans les poils staminaux de *Tradescantia* ou les feuilles d'*Elodea*. Mais chez les Mousses cette cyclose est infiniment plus lente que chez ces derniers végétaux. On la constate aisément, cependant, en observant à intervalles réguliers les plastes au sein du cytoplasme. Leur changement de position relative rend compte de cette motilité. Dans les cellules âgées et déjà entrées dans une phase de dégénérescence (cellules du protonéma en particulier), les granulations cytoplasmiques sont animées de mouvements browniens.

On peut voir une relation étroite entre la motilité du cytoplasme et les modifications biochimiques qui s'y produisent. L'extrême lenteur de la cyclose chez les Mousses et l'influence pratiquement insensible de la lumière ou de la

chaleur sur elle, témoigneraient ainsi en faveur d'échanges cellulaires restreints qui accompagneraient un métabolisme très réduit. Cette faible activité vitale explique d'ailleurs comment on a pu conserver vivants, dans des conditions asphyxiques, des protonémas vieux de 7 ans (SERVETTAZ, 1913).

Plastes et mitochondries.

Parmi les organites contenus dans le cytoplasme, le noyau est le plus volumineux. Son rôle, comme on le sait, est important, non seulement dans la mitose et dans la transmission des caractères héréditaires, mais dans le métabolisme général de la cellule. Nous n'envisagerons pas son étude au cours de cet exposé.

A côté du noyau, on trouve au sein du cytoplasme des granulations de taille et de forme différentes : ce sont les mitochondries (ou cytosomes de P.-A. DANGEARD) et les plastes.

Les mitochondries apparaissent dans la cellule des Muscinées sous forme de petits grains ovoïdes ou sphériques, et plus rarement sous forme de bâtonnets et de filaments. Visibles, quoique incolores, à l'état vivant, dans certains cas favorables, elles sont conservées par des fixateurs dits mitochondriaux d'où l'alcool et l'acide acétique sont exclus. Les protéines qui les constituent sont en effet associées à des lipides très sensibles à ces réactifs.

Les plastes conservent leur individualité dans toutes les cellules des Mousses, apparaissant ainsi comme des organites indépendants des mitochondries. Pour SCHERRER et SAPEHIN, ils se transmettent en effet de cellule en cellule sans revenir jamais à l'état de chondriosomes. Les Bryophytes constitueraient donc un groupe favorable à la vérification de l'opinion de P.-A. DANGEARD quant à l'origine des plastes et des mitochondries. Mais les deux lignées indépendantes que nous constatons ici, peuvent engendrer chez

les végétaux supérieurs, lorsqu'elles se différencient, des granulations presque identiques ; cependant, malgré leur analogie d'aspect, on ne peut leur attribuer la même origine, ni le même nom. La conception d'un plastidome doué d'autonomie semble avoir été battue en brèche par les conclusions de divers auteurs qui croient que les plastes de certaines espèces de Mousses dérivent des chondriosomes. Nous verrons dans ce qui va suivre que cette opinion n'est pas fondée sur des faits parfaitement établis.

Au cours de ce travail, nous nous sommes occupé particulièrement des chloroplastes, extrêmement nombreux et de forme très variée, représentant remarquablement le plastidome chez les Bryophytes. Chaque fois qu'il a été possible, nous en avons précisé la structure et donné de celle-ci l'interprétation qui paraît la plus judicieuse.

A côté du plastidome, du chondriome et du noyau, on trouve des enclaves plus ou moins liquides, ménagées au sein du cytoplasme ; ces enclaves ou vacuoles constituent le vacuome. Nous ne nous sommes jamais attaché à les étudier systématiquement, mais nous avons toujours noté leurs rapports avec la matière vivante chaque fois que c'était possible.

DEUXIÈME PARTIE

TECHNIQUE

I. — OBSERVATION VITALE

Chez les Mousses, beaucoup d'organes sont transparents et se prêtent facilement à l'observation vitale ; c'est le cas des feuilles, des paraphyses, du protonéma, des spores, qui peuvent être placés directement entre lame et lamelle et examinés au microscope avec les plus forts grossissements. Le milieu de montage le plus simple est constitué par l'eau naturelle ; elle conserve aux organes une vitalité parfaite, puisqu'elle les maintient dans des conditions très proches de celles réalisées dans la nature.

Les organes opaques comme les tiges, ou certaines feuilles particulièrement épaisses, ont été examinés souvent sans dissection préalable en donnant un éclairage favorable. D'autres fois, il nous a fallu disséquer les organes à observer ; c'est le cas pour les anthéridies ou les archégones. Nous avons alors pratiqué des coupes longitudinales dans les sommets des tiges inclus dans la moelle de sureau.

L'observation vitale ainsi pratiquée, permet d'examiner avec le plus grand soin le cytoplasme, les plastes et les mitochondries, à condition toutefois que la membrane cellulaire soit suffisamment mince (*Hookeria lucens*, *Funaria hygrometrica*). Dans les autres cas, les plastes seuls peuvent être observés commodément. L'emploi des colorants vitaux permet alors de préciser certains détails. C'est ainsi que nous avons employé le rouge neutre en solution à 1/10.000, qui colore électivement le suc vacuolaire. Mais l'entrée du colo-

rant dans la cellule reste toujours subordonnée à la nature des organes à étudier ; c'est ainsi que les filaments protonémiques se laissent facilement pénétrer. Les spores ou les cellules foliaires sont au contraire plus résistants.

Nous avons tenté de colorer le chondriome par le Vert Janus ; les résultats inconstants et douteux que nous avons obtenus, ne nous ont pas permis de considérer cette méthode comme utile à l'étude que nous poursuivions.

Le liquide de Lugol a été maintes fois employé pour mettre en évidence l'amidon dans les chloroplastes. Il le colore en bleu violacé en même temps qu'il tue la cellule et colore le cytoplasme en brun clair. Après fixation, nous avons fait usage, de préférence, d'une solution plus concentrée en iode, préparée en étendant d'eau une teinture alcoolique jusqu'à obtention d'une coloration « vieux cognac ».

Il nous a fallu souvent contrôler la présence de lipides dans le protoplasme ; leur grande réfringence nous les désignait souvent à côté de granulations mitochondriales. Pour les mettre en évidence, nous nous sommes toujours adressé à l'acide osmique dont la réduction immédiate les fait apparaître avec certitude. Nous avons utilisé ce réactif à la concentration de 2 $^{0}/_{0}$ dissous dans une solution aqueuse d'acide chromique à 1 $^{0}/_{0}$. La petite quantité de lipides à mettre en évidence chez les Mousses ne permet pas l'emploi du rouge Soudan III en solution alcoolique, l'alcool dissolvant une grande partie de ces lipides.

II. — FIXATION

L'observation vitale nous renseigne insuffisamment sur la constitution cytologique des organes étudiés. Aussi avons-nous employé les méthodes modernes de l'histologie, en comparant les résultats qu'elles nous donnaient avec ceux obtenus par l'observation du matériel vivant.

Nous avons toujours attaché le plus grand soin à la fixation en nous procurant autant que possible un matériel en

parfaite vitalité. Pour obtenir une pénétration rapide du mélange fixateur, il nous a fallu, parfois, fixer sous un vide partiel les tiges que des bulles d'air, emprisonnées dans les tissus, auraient maintenues à la surface du liquide.

A. — En vue de l'étude du cytoplasme, nous avons employé les méthodes mitochondriales qui ont été expérimentées avec succès par de nombreux auteurs, sur du matériel différent. Mais, au risque d'une perte de temps, nous avons voulu, chaque fois que cela fut possible, vérifier la valeur des divers procédés en employant la méthode des fixations comparées. Une méthode nous a donné de bons résultats : c'est celle de Regaud (N° IV). Les objets sont introduits dans le mélange :

Formol à 40 %	1 partie
Bichromate de K à 3 %	4 parties

Après 4 jours de fixation, le matériel est postchromisé 8 jours dans le bichromate de K à 3 % en vue de favoriser la coloration des mitochondries.

B. — Nous avons employé la méthode de Tupa, très favorable, et plus rapide que celle de Regaud. Elle consiste à fixer pendant 24 heures, dans une des deux solutions suivantes :

1°	Solution de formol à 20 % .	100 p.
	Nitrate d'Ur.	1 p.
2°	Solution IV de Regaud .. (voir plus haut)	100 p.
	Nitrate d'Ur.	1 p.

Le liquide fixateur est renouvelé après 8 à 10 heures. Le nitrate d'Ur. supprimant la postchromisation, le matériel peut être utilisé plus rapidement. Moins employé que le Regaud le Tupa peut cependant le remplacer très avantageusement.

C. — Toujours dans un but de comparaison, nous avons employé le Helly qui paraît être un fixateur complet :

Bichlorure de Hg	5 gr.
Bichrom. de K.	2 gr. 5
Sulfate de Na	1 gr.
Eau distillée	100 cc.
Formol (au moment de l'emploi)	10 cc.

La durée de fixation est de 24 heures. Elle est suivie d'un lavage à l'eau, puis d'un passage dans 2 alcools iodés, destinés à éliminer le sublimé.

D. — Nous avons essayé d'autre part, une formule nouvelle de fixateur chromo-mercurique-formolé, présentée par M. Malvesin-Fabre (Thèse Bordeaux, 1945). Malgré son pH nettement acide, le C. M. F. 24 a fixé correctement le chondriome :

Solution mère :

Bichromate de K à 5 %......	100 cc.
Acide chromique	1,5 gr.
Bichlorure de Hg à 5 %	80 cc.

A l'emploi mélanger :

Solution mère	9 parties
Formol à 40 %	1 partie

E. — Ces mélanges fixateurs fixent bien le cytoplasme, mais ne nous renseignent nullement sur les inclusions lipidiques que celui-ci recèle parfois. Aussi est-il nécessaire de mettre ces dernières en évidence dans les coupes. Nous nous sommes adressé dans ce but, au liquide de Benda-Mèves à base d'Ac. osmique :

Ac. chromique à 1 %.........	10 vol.
Ac. osmique à 2 %	2 vol. 5
Ac. acétique cristall.	1 goutte

L'ac. osmique est réduit au contact des graisses et précipite de l'osmium métallique qui apparaît en noir.

Nous nous sommes enfin adressé à des mélanges réputés pour leur action désorganisatrice du cytoplasme. Nous aurons l'occasion de vérifier plus loin cette assertion dans le cas qui nous intéresse. Cependant ces mélanges conservent remarquablement certaines structures du plastidome ; ce sont :

F. — *Liquide de Nawaschin* :

Solution A :

Ac. chromique	1 gr. 5
Ac. acétique crist.	10 cc.
Eau distillée	90 cc.

Solution B :

Formol commercial	40 cc.
Eau distillée	60 cc.

On mélange à l'emploi les solutions A et B en proportion égale.

G. — *Liquide de Bouin-Hollande* :

Eau distillée	100 cc.
Acétate neutre de Cu	2 gr. 5
Ac. picrique	4 gr.
Formol à 40 %	10 cc.
Ac. acétique cristall.	1 cc. 5

Dans les deux cas, la fixation dure 24 heures.

III. — INCLUSION

Malgré la délicatesse de l'inclusion à la paraffine, ce procédé ne peut être remplacé par aucun autre. Il nous a permis d'effectuer des coupes de 5 μ environ.

Après déshydratation, nous avons employé le xylol comme milieu d'imprégnation, préparant la pénétration par la paraffine fondue. Les durées de séjour dans les différents milieux ont été les plus réduites possibles. Après bien des tâtonnements, nous avons adopté les temps suivants :

1er alcool à 95°	12	heures
2e alcool à 95°	12	—
1er alcool absolu	12	—
2e alcool absolu	12	—
Alcool-xylol	4	—
Xylol	4	—
Xylol-paraffine	4	—
Paraffine	12	—

IV. — COLORATION

A. — Hématoxyline de Heidenhain.

C'est la méthode que nous avons le plus souvent employé. Elle a l'avantage de pouvoir être utilisée après n'importe quelle fixation et de donner une coloration stable. Après 24 heures de mordançage dans l'alun de fer ammoniacal à 4 % et un lavage prolongé à l'eau courante, on surcolore les coupes en les maintenant dans un bain ainsi constitué :

Hématoxyline	1 gr.	Ce mélange permet une maturation rapide de la solution.
Alcool à 95°	10 cc.	
Glycérine	10 cc.	
Eau distillée	80 cc.	

La différenciation est effectuée dans l'alun à 4 % puis achevée sous le microscope dans l'alun à 2 %.

L'intérêt de ce procédé réside en ce qu'il permet une différenciation dont l'observateur est maître et qu'il peut arrêter quand bon lui semble, suivant la catégorie d'éléments

qu'il désire étudier sur chaque préparation. C'est grâce à lui que nous avons pu mettre en évidence les structures de plastes que nous décrirons plus loin.

B. — **Coloration de l'amidon par l'iode.**

En fait de colorations combinées, nous avons surtout coloré l'amidon contenu dans les plastes par le liquide de Lugol, après coloration à l'hématoxyline. Une faible régression par l'alun est suffisante. Elle est suivie d'un bain dans la solution iodo-iodurée qui teint en brun noir les inclusions d'amidon. Une déshydratation très rapide à l'alcool absolu est nécessaire avant le montage au baume.

C. — **Coloration par la fuchsine acide.**

Nous avons employé, selon Altmann, la Fuchsine acide en solution à 10 % dans l'eau anilinée saturée ; ce procédé rapide n'a toutefois été utilisé que pour confirmer les résultats obtenus avec l'hématoxyline.

V. — ILLUSTRATION

Les grossissements les plus forts que nous avons pu réaliser ont été employés pour l'observation de nos coupes. La reproduction des images que nous avons observées a toujours été effectuée par le dessin, en s'aidant de la chambre claire de Nachet. A l'aide de cet appareil, nous avons tracé le contour des cellules et mis en place les principaux éléments de leur contenu. Les détails que nous avons précisés n'ont été placés qu'ensuite grâce à l'observation directe.

Grossissement des figures : 1.200 × environ.

TROISIÈME PARTIE

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES MOUSSES

ESPÈCES ÉTUDIÉES

1° **Sphagnales.**

Sphagnum cymbifolium Ehrh.

2° **Bryales.**

Dicranaceae :

Dicranum scoparium (L.) Hedw.

Pottiaceae :

Barbula intermedia Milde

Grimmiaceae :

Grimmia pulvinata (L.) Smith

Funariaceae :

Funaria hygrometrica Sibth.

Mniaceae :

Mnium undulatum Weis.
Mnium punctatum Hedw.
Mnium rostratum Schrad.

Fontinalaceae :

Fontinalis antipyretica L.

Hookeriaceae :

Hookeria lucens Smith.

Brachytheciaceae :

Scleropodium purum (L.) Limpr.

Polytrichaceae :

Atrichum undulatum P. Beaw.
Pogonatum aloides P. de B.
Polytrichum formosum Hedw.

Chapitre premier

SPORE ET PROTONÉMA

A) HISTORIQUE

L'étude de la spore et de sa germination fut entreprise depuis fort longtemps puisque les premiers travaux sur ce sujet datent d'Hedwig en 1782. Mais pendant longtemps les recherches entreprises restent isolées jusqu'à ce qu'apparaissent les ouvrages fondamentaux de Sachs (1868-70) et de K. Gœbel (1874-82). Dès lors, les études vont se spécialiser dans diverses directions et éclaircir certains points de détail ; c'est ainsi que spores et protonémas sont étudiés tour à tour au point de vue morphologique, anatomique, cytologique ; de même l'influence du milieu est précisée.

B) ÉTUDE PERSONNELLE

1° **Funaria hygrometica** (Fig. 1 et 2).

La spore : elle se présente sous forme d'une sphère à peu près parfaite ; la membrane externe ou exospore est pigmentée de brun-ocre ; elle présente des aspérités coniques régulièrement disposées sur toute la surface. Cette enveloppe d'épaisseur relativement grande laisse voir le contenu cellulaire de la spore ; on n'y distingue aucune cloison intérieure : la spore est unicellulaire.

Ce qui frappe d'abord dans cette cellule, c'est la présence d'une ou plusieurs (2 ou 3 au maximum) gouttelettes lipidiques très réfringentes, dont le volume total est à peu près constant pour l'espèce. Ces lipides réduisent très fortement l'ac. osmique. Autour de ces réserves huileuses un cytoplasme dense recèle de petites granulations qui pourraient être des mitochondries ou de très jeunes vacuoles. Les

plastes sont nombreux, mais le pigment en est masqué par la teinte générale de l'enveloppe. Les aspérités de cette enveloppe empêchent également de bien distinguer la structure de ces plastes. Un examen attentif permet cependant de constater la présence de grana à leur surface. Nous n'y avons pas vu d'amidon.

Les travaux de P. Dangeard, notamment sur les grains de pollen et sur diverses spores, ont apporté un ensemble de preuves en faveur de la permanence du système vacuolaire chez les végétaux ; aussi il nous a paru intéressant de rechercher l'existence d'un vacuome à l'intérieur de la spore des mousses. Si, en effet, des vacuoles peuvent être décelées dès la formation des tétrades de spores, nous pourrons penser que les vacuoles du protonéma ne naissent point de *novo* mais résultent des vacuoles primitives.

Nous avons essayé de colorer vitalement cette spore avec divers colorants vitaux ; seul le Rouge neutre nous a donné satisfaction (fig. 3 et 4). Mais les résultats que nous avons obtenus sont difficiles à interpréter. En effet, la pénétration du colorant à l'intérieur de la spore est très lente (même en solution concentrée au 1/2.000) et nécessite plusieurs heures. Aussi, il nous est difficile de dire si les vacuoles colorées par le Rouge neutre existent bien dans la spore au moment de son immersion dans la solution. Nous pensons plus volontiers que les primordia des vacuoles existent bien dans la spore et peuvent être facilement confondus avec d'autres granulations ; les vacuoles qui prennent le colorant vital résulteraient d'un accroissement considérable de ces primordia.

Germination (fig. 8, 9 et 10). — Placées dans des conditions favorables, les spores mûres germent au bout d'un temps très court (4 à 5 jours pour l'espèce décrite). Afin d'étudier en détail le processus, nous les avons cultivées au laboratoire dans des boîtes de Pétri sur coton de cellulose, imbibé du liquide de Marchal. Elles avaient environ 2 mois de

maturation. La germination a été suivie en prélevant régulièrement sous la loupe binoculaire,la spore ou le protonéma. Après avoir gonflé sur le coton humide, durant le temps nécessaire, l'exospore se déchire irrégulièrement pour laisser passer l'endospore qui s'étire en un filament protonémique. Cette germination est accompagnée d'un remaniement cellulaire important. L'énorme goutte de lipide qui tenait une grande place dans la spore s'est peu à peu divisée en une multitude de gouttelettes réfringentes comme elle, mais de taille de plus en plus réduite. Tout comme dans la germination d'une graine, le début de la germination de la spore s'accompagne donc d'une mobilisation de réserves, qui, tout en les divisant, les rend plus utilisables par la cellule.

Le filament protonémique s'allonge très rapidement ; il est cylindrique, très chlorophyllien et d'un diamètre légèrement inférieur à celui de la spore qui lui a donné naissance. Dès qu'elle atteint une certaine longueur, une cloison isole, sous forme de cellule externe, l'expansion tubulaire extruse de la spore. Ainsi est engendré, par allongement et cloisonnements successifs, le filament protonémique dont certaines cloisons, d'ailleurs, sont obliques. La croissance basilaire et terminale au début, ralentit pour ne rester que terminale ininterrompue à la fin.

Au cours de la croissance du protonéma on peut observer de nombreuses ramifications. Dans les conditions naturelles quelques-unes pénètrent dans le sol, perdent leur chlorophylle et se transforment en rhizoïdes.

Dès l'émission du tube protonémique le métabolisme de la cellule basale ne cesse de croître. Les chloroplastes apparaissent avec une structure nettement granuleuse et présentent déjà une inclusion d'amidon. Ils entrent rapidement en division, et parfois dans la même cellule on voit tous les plastes présenter simultanément l'aspect caractéristique de leur bipartition. Durant la première phase de l'accroissement du protonéma, les plastes gardent cette faculté de division ininterrompue, si bien que la majorité d'entre eux

se présentent avec un aspect fusiforme, leurs deux extrémités gardant la trace des étirements qui ont marqué les divisions répétées. Ils n'ont pas eu le temps entre deux divisions successives de retourner à la forme normale.

Dans le filament protonémique les plastes conservent une structure granuleuse. Sur le stroma bien chlorophyllien, les grana se détachent par leur teinte plus foncée. Certains plastes présentent un ou deux grains d'amidon sphériques ou ovoïdes. On remarque de plus quelques granulations réfringentes par cellule. Ce sont les restes des réserves lipidiques que la spore a utilisées au début de sa germination.

L'étude avec coloration vitale au Rouge neutre n'apporte aucun fait nouveau aux observations déjà décrites. A un stade très jeune où le filament protonémique ne possède qu'une seule cellule, elle met cependant en relief l'importance relative du vacuome dans les 2 cellules : dans la spore hypertrophiée une seule vacuole centrale, très importante, dans la cellule protonémique de petites vacuoles sphériques réparties çà et là dans le cytoplasme. A mesure que cette cellule grandit les vacuoles augmentent de volume et s'unissent pour former dans une cellule adulte de protonéma une grande vacuole centrale entourée d'un cytoplasme pariétal. Il ne paraît donc pas, là non plus, qu'il y ait apparition de vacuoles *de novo*.

2° **Pogonatum aloides.**

La spore (fig. 5, 6, 7). Elle diffère sensiblement de celle de *Funaria*. Légèrement plus volumineuse, elle présente une enveloppe moins épaisse et incolore, laissant bien voir le contenu cellulaire. Celui-ci est uniformément réparti à l'intérieur. On y distingue facilement de gros chloroplastes sphériques, présentant une structure très nette, au sein d'un cytoplasme garni de granulations lipidiques réfringentes, arrondies, de taille parfois inégale, mais toujours très petites. Le noyau n'est pas toujours apparent. Au sein du cytoplasme homogène, on distingue de minuscules orga-

nites ponctiformes qui pourraient correspondre d'une part à un chondriome très divisé, qui se retrouve d'ailleurs dans le protonéma, et d'autre part aux *primordia* des vacuoles.

En faisant agir le Lugol, on constate la présence dans certains plastes de la spore (toujours très peu nombreux), d'enclaves d'amidon en forme d'amande. Mais ce sont les lipides qui constituent la majorité de ses réserves, comme nous l'avons déjà constaté plus haut.

Phase protonémique (fig. 11, 12, 13, 15). — Nous ne décrirons pas la germination de la spore qui ne diffère en rien de celle de *Funaria hygrometrica.* Nous nous occuperons davantage de l'étude du développement du protonéma en nous attachant à noter les différentes structures cellulaires qu'il présente avant d'engendrer la tige feuillée.

Voyons tout d'abord la structure d'une cellule protonémique proximale. Après s'être divisée, elle s'est allongée et a atteint une phase de repos. Ses plastes sont en effet volumineux et ne présentent que très rarement les aspects caractéristiques de la division ; ils ne renferment pas sur le vivant d'inclusions amylifères. Mais cette cellule présente encore, à des degrés différents suivant qu'on s'approche du point de croissance, des inclusions lipidiques. Celles-ci sont localisées dans le cytoplasme pariétal et parfois disposées autour des plastes. Très réfringentes sur le vivant, l'acide osmique a sur elles une réaction positive.

Sensiblement différente est la structure de la cellule initiale d'un filament protonémique. C'est une cellule très allongée et très chlorophyllienne. Les plastes y sont nombreux et régulièrement disposés dans la couche de cytoplasme pariétal. Le centre de la cellule est occupé par une grande vacuole dont une coloration vitale au rouge neutre permet de préciser les limites. Contrairement à ce que l'on constate ailleurs, aucun trabécule cytoplasmique ne vient sillonner cette vacuole. La grande majorité des plastes qu'elle renferme présente les différents stades de division

que nous avons décrits par ailleurs. Beaucoup d'entre eux recèlent une enclave d'amidon qui se partage avant la scission du plaste. Elle persiste à l'intérieur de chaque plaste nouvellement formé, s'accroît en même temps que lui et se fragmente après avoir atteint une certaine taille. Une structure finement ponctuée est visible sur certains de ces plastes mais uniquement sur ceux dont la position est la plus favorable à l'observation. Une méthode simple permet d'accentuer cette structure, tout en poursuivant l'observation au microscope. Elle consiste à faire arriver entre lame et lamelle quelques gouttes d'alcool absolu. Par ce procédé on fixe rapidement le protoplasme avant toute contraction. Puis on assiste à la dissolution de la chlorophylle et avant même qu'il y ait disparition totale du pigment, on voit les *grana* se détacher de mieux en mieux sur le *stroma*. Ces grana apparaissent nombreux, difficilement chiffrables, mais toujours ponctiformes. Du fait de la déshydratation le plaste prend à la fin un aspect mûriforme.

Bourgeonnement. — Il nous a été possible enfin de suivre sur le protonéma de *Pogonatum aloides* le processus de bourgeonnement (fig. 12). C'est toujours au-dessous de la cloison qui la sépare de la cellule plus jeune, qu'une cellule protonémique engendre une ramification latérale (bien entendu la cellule terminale ne fournit jamais ce genre de production). On assiste tout d'abord à un tassement du matériel cytoplasmique vers cette membrane, en même temps qu'apparaît une excroissance dans l'enveloppe. L'accumulation du cytoplasme, des plastes et des chondriosomes chasse le suc vacuolaire de cette portion de cellule qui ne tarde pas à s'isoler par une membrane transversale. Les éléments cytoplasmiques se multiplient abondamment pendant que le diverticule latéral s'allonge. Le matériel cytoplasmique se répartit ensuite autour des parois de la ramification qui ne cesse de grandir et qui se sépare du filament protonémique initial par une cloison basilaire concave.

3º **Grimmia pulvinata.**

C'est un cas intéressant, car contrairement aux précédents, le filament protonémique émerge, non pas de la spore unicellulaire, mais d'un massif cellulaire formé à partir de celle-ci (fig. 14). On retrouve donc un processus analogue à celui décrit par Servettaz chez *Orthotrichum obtusifolium* (1913). Après avoir atteint une assez forte taille, la spore se cloisonne en plusieurs quadrants ; l'un d'eux s'allonge en filament mais fréquemment on en voit deux naître de ce même massif et proliférer abondamment.

Contrairement aux cas précédents, les cellules des filaments protonémiques de *Grimmia* possèdent des cellules courtes, aux membranes fortement bombées vers l'extérieur, faisant penser à une forte turgescence intérieure. Les plastes y sont sphériques et de forte taille.

C) CONCLUSION

L'examen du contenu de la spore, ainsi que l'étude du développement du protonéma, nous renseignent donc dès maintenant sur les constituants cellulaires essentiels des Bryophytes. Au sein du cytoplasme homogène, et outre le noyau, on trouve des plastes chlorophylliens dont la structure, généralement granuleuse chez les Muscinées se révèle déjà dans la spore vivante ; délicate à saisir dans les plus jeunes cellules du protonéma, cette structure s'accentue avec l'âge des cellules et apparaît nettement dans les filaments âgés du protonéma.

L'étude cytologique des réserves de la spore et du protonéma, présente un intérêt frappant vis-à-vis du métabolisme de ces organes. Nous avons pu constater, en effet, sur toutes les espèces étudiées, une diminution des réserves lipidiques au cours de la germination ; emmagasinées dans la spore sous forme de grosses gouttelettes, nous les avons vu se diviser, diminer de taille et disparaître. Simultanément,

et jusqu'à ce qu'il ait atteint une taille adulte, nous avons vu croître les réserves amylacées dans le protonéma : nulles ou à peu près dans la spore, elles apparaissent peu après le début de la germination, au sein des chloroplastes sous forme d'inclusions de plus en plus volumineuses. (Remarquons que nous n'avons pas annexé à ces observations les cas de dégénérescence graisseuse constatés maintes fois dans des protonémas âgés, les lipides engendrés dans ce cas ne jouant pas le rôle de réserve).

Le chondriome nous est toujours apparu très divisé, sous forme de granulations ou de courts bâtonnets. Jamais nous n'avons constaté sur le vivant la présence de longs filaments observés, comme nous le verrons par la suite, sur d'autres organes.

Nous pensons enfin que de minuscules vacuoles de la taille des mitochondries existent dans la spore mûre ; mais les inclusions qui se colorent vitalement ne paraissent pas donner une image exacte du vacuome avant son hydratation.

Chapitre II

LA CELLULE GÉNÉRATRICE DE LA TIGE

A) HISTORIQUE

Les premiers auteurs qui étudièrent la tige des Bryophytes Naegeli (1845), Schimper (1848-1857), Hofmeister (1851), Lorenz (1867) virent toute l'importance, au point de vue anatomique, de la cellule apicale de la tige des Muscinées. Ils s'attachèrent à décrire avec beaucoup de soins, la formation de tous les organes à partir de cette cellule. Mais ces travaux ne donnent aucune indication sur son contenu cellulaire. Il faut attendre ainsi les travaux

de SAPEHIN (1913) pour avoir quelques précisions à ce sujet. Il décrit (1) ainsi la cellule apicale de *Polytrichum piliferum* dans un travail destiné à élucider les rapports des plastes et des chondriosomes ; il y voit des chloroplastes dérivant les uns des autres par bipartition et des chondriosomes granuleux. Il pense que ces deux lignées d'organites sont totalement indépendantes. Une pareille conclusion semble s'imposer d'ailleurs à SCHERRER (1913) et à MOTTIER (1918) après l'étude de la tige de diverses Hépatiques. Cette interprétation soulève cependant l'objection de ALVARADO (1923) qui pense que chez *Mnium cuspidatum*, certains chondriosomes peuvent évoluer au cours de la vie du végétal et se transformer en plastes. C'est à une conclusion toute différente qu'aboutit P. DANGEARD après son étude sur *Fontinalis antipyretica*. Comme chez le *Polytrichum*, la cellule apicale recèle des plastes et des cytosomes ; ceux-ci peuvent s'allonger, mais jamais on ne peut voir là une transformation en plastes. Ce sont enfin les études de MOTTE (1928) sur ce sujet. Pour cet auteur des espèces comme *Mnium punctatum* et *Hypnum fluitans* présentent dans leur cellule apicale des chloroplastes et des chondriosomes parfaitement caractérisés ; d'autres, comme *Gasterogrimmia crinita* et *Rhynchostegium megapolitanum*, présentent seulement des mitochondries et des chondriocontes. MOTTE rattache même les chloroplastes aux mitochondries par toute une série de formes de transition. C'est à une conclusion différente qu'aboutissent nos propres recherches sur des espèces voisines de celles-ci (P. DANGEARD et J. EYMÉ, 1946).

B) RECHERCHES PERSONNELLES

Nous n'avons jamais réussi, jusqu'ici, à examiner sur le vivant la cellule apicale d'une tige de mousse. Les différentes techniques essayées pour l'isoler, nous ont toujours

(1) D'après J. MOTTE (Thèse, 1928).

paru insuffisantes; pour préciser, il nous paraît même impossible, sans microdissection, d'observer *sûrement in vivo* la cellule apicale. Aussi pour toutes les observations que nous décrirons, nous adresserons-nous à du matériel fixé.

1° **Grimmia pulvinata** (Fig. 16).

La cellule apicale de *Grimmia pulvinata* est facilement décelable au centre du bourgeon de l'axe grâce à sa grande taille et à celle de son noyau. Elle nous est apparue selon la forme classique d'un tétraèdre dont la largeur de base égale la hauteur. Nous l'avons examinée à l'état fixé par les liquides de REGAUD et de HELLY et après coloration à l'hématoxyline. Autour du noyau finement réticulé, nous avons toujours trouvé des amas de plastes très nettement différenciés ainsi que le représente la figure. D'autres sont disposés au contraire près des parois cellulaires. Ils nous sont toujours apparus ovoïdes, à contour très chromophile ; le centre non coloré par l'hématoxyline est occupé par de l'amidon. Leur taille est toujours réduite de moitié par rapport à ceux des cellules adultes de l'axe.

Au sein du cytoplasme qui apparaît en travées délicates limitant de grands espaces vides, occupés sans doute par les vacuoles, sont localisées quelques mitochondries ponctiformes et quelques bâtonnets flexueux qui paraissent être des chondriocontes. Jamais nous n'avons vu de plastes à l'état de division, dans les diverses cellules apicales examinées. Ceci s'explique par la vitalité diminuée du végétal à l'époque où fut effectuée la fixation.

2° **Scleropodium purum** (Fig. 16).

La cellule apicale de *Scleropodium purum* n'est pas recouverte, comme dans certains cas, par les jeunes feuilles du bourgeon. Elle est donc bien reconnaissable vu sa situation. Une même coupe de *Scleropodium purum* peut d'ailleurs

présenter plusieurs cellules apicales, grâce à la présence de bourgeons secondaires non loin du sommet. Un tel cas s'est souvent présenté au cours de cette étude ; il n'a fait que la faciliter.

La forme générale de cette cellule est, dès sa différenciation, celle d'une pyramide dont la base constituerait le sommet du bourgeon. Mais par la suite, la pression des cellules engendrées de part et d'autre d'elle, contribue à réduire sa base, et nous avons affaire le plus souvent, comme le représentent nos figures, à une cellule sensiblement prismatique, surmontant une pyramide dont le sommet est au centre du bourgeon axial. La hauteur de l'ensemble mesure de 5 à 8 fois environ la largeur moyenne. Ce qui frappe le plus dans cette cellule, c'est le noyau dont le diamètre atteint presque la largeur de la cellule.

Fixation au Regaud IV. — C'est celle qui nous a donné les meilleurs résultats. Le cytoplasme paraît ainsi homogène et uniformément réparti selon un réseau ténu aux mailles étroites. C'est au sein de ce cytoplasme que sont disposés plastes et mitochondries en particulière abondance près de la membrane nucléaire.

Les plastes ont une taille réduite inférieure de moitié à celle des plastes des cellules adultes ; or, ceux-ci sont peu volumineux comme en général chez toutes les Hypnacées et une observation soigneuse est nécessaire. Les plus âgés d'entre eux ne présentent qu'une inclusion unique d'amidon à la différence des plastes adultes de la tige qui peuvent en posséder de multiples. De forme générale lenticulaire, ils présentent d'incontestables figures de division, ce qui d'ailleurs, correspond à l'état de croissance active du végétal au moment de la fixation. Le processus de division devient facile à suivre lorsque le plaste porte à l'intérieur une inclusion d'amidon : le plaste s'allonge et l'inclusion est divisée par la moitié. Un étirement se produit alors et les deux plastes fils se séparent ; on peut les reconnaître encore pen-

dant un certain temps grâce à l'effilement d'une de leurs extrémités.

Quant au chondriome, il est représenté par une grande quantité de mitochondries ponctiformes, très chromophiles, et par quelques bâtonnets courts et épais ; beaucoup plus rares sont les longs filaments ou chondriocontes, qui se différencient plus bas dans la tige où ils se trouvent en grande abondance. On peut voir là une preuve de plus de l'importance du chondriome et plus particulièrement des mitochondries dans une cellule où le métabolisme est très actif. Le grand nombre de ces éléments et par conséquent leur grande surface dans la cellule apicale, jouerait un rôle important dans ce métabolisme. Les cellules de l'axe n'ayant qu'une faible activité physiologique, on conçoit que le chondriome y soit peu divisé.

3° Autres espèces.

C'est à dessein que nous avons placé en tête de ce chapitre l'étude de *Grimmia pulvinata* et de *Scleropodium purum*. Ce sont en effet là des espèces très voisines de celles étudiées par MOTTE (1928) et, contrairement aux résultats de cet auteur, nous n'y avons trouvé aucune structure différente de celle des autres espèces (P. DANGEARD et J. EYMÉ, 1946). C'est ainsi que nous avons étudié dans un but de comparaison la composition cytoplasmique de la cellule apicale de *Dicranum scoparium* (fig. 19) et de *Mnium rostratum* (fig. 21). Nous y avons toujours vu un cytoplasme en réseau aux mailles étroites et parfaitement régulières. Ailleurs, comme chez *Polytrichum formosum* (fig. 20) ou *Atrichum undulatum* (fig. 18) les vacuoles sont plus irrégulières et de tailles diverses. Souvent, chez ces espèces, le cytoplasme est tassé contre les membranes cellulaires, alors que de minces trabécules parcourent seuls le centre de la cellule. Plastes et mitochondries se trouvent toujours chez ces diverses espèces comme chez celles étudiées plus haut. Leur forme, leur

taille et leur nombre varient évidemment comme le représentent nos figures. Nous avons même constaté que la taille des plastes d'une cellule apicale dans une espèce donnée, n'est pas fonction de la taille des plastes adultes. Quant à leur nature, nous croyons pouvoir affirmer que les plastes de toutes les cellules apicales sont chlorophylliens ; c'est ce qu'indique l'observation vitale des bourgeons dilacérés sous le binoculaire et observés au microscope. Les chloroplastes de la cellule apicale, comme ceux d'autres organes, laissent d'ailleurs voir en leur sein des inclusions d'amidon ; mais ces inclusions sont toujours simples et n'atteignent jamais la complication qu'elles présentent chez les plastes adultes. Le chondriome est toujours présent dans la cellule apicale et cela sous forme de granulations ponctiformes atteignant parfois une ténuité extrême. Cependant, on y trouve également des bâtonnets courts et allongés tels qu'on peut les voir dans les cellules de la tige. Mais nous avons constaté aussi que les formes filamenteuses du chondriome sont abondantes seulement, là où les plastes ne sont pas en état de division. Au contraire, une cellule apicale fixée au moment d'une multiplication intense, attestée par la présence de nombreux plastes en état de division, laisse toujours voir un chondriome très divisé, avec une majorité très nette de granulations par rapport aux filaments.

Nous ferons enfin une remarque sur la forme générale des cellules apicales et leur taille relative. Il est un fait que nous avons constaté souvent et qui se remarque sur nos dessins : plus la tige de la mousse adulte a une taille réduite, plus sa cellule apicale est courte. Ex. : *Grimmia*, *Atrichum*. Pour des Mousses de taille moyenne, la cellule apicale est sensiblement plus longue que large. Ex. : *Polytrichum*, *Dicranum*. Lorsqu'au contraire on s'adresse aux *Hypnum*, aux *Sphagnum*, ou encore au *Mnium rostratum* la cellule apicale est bien plus longue que large. Il semble donc qu'il y ait ici un rapport direct entre l'allongement relatif de la cellule apicale d'une tige et la taille effective de celle-ci.

C) CONCLUSION

En résumé, nous croyons que l'étude de la cellule apicale présente un intérêt capital et c'est pourquoi nous nous y sommes arrêté. Elle renferme en effet les éléments primordiaux du protoplasme à partir desquels tous ceux du végétal se différencieront, puisqu'elle est à l'origine de ses différents tissus. L'examen de son contenu est précieux en particulier, comme le note Gavaudan, pour trancher la question de l'origine des deux lignées d'organites cytoplasmiques. En effet, les plastes et les mitochondries que l'on rencontre concurremment pendant tout le cycle végétatif des Bryophytes se trouvent côte à côte dans la cellule apicale. Les plastes, probablement chlorophylliens, recèlent souvent des inclusions d'amidon ; le stroma de ces plastes nous a toujours paru homogène malgré la diversité des fixateurs employés. Le chondriome n'a jamais paru se confondre avec le plastidome; nous avons noté un plus grand état de division des mitochondries en relation avec une activité métabolique accrue. Des vacuoles sont toujours présentes à l'intérieur d'un réseau de cytoplasme dont les mailles sont parfois irrégulières, ou plus souvent, régulières. La structure de cette cellule apicale renferme donc tous les éléments d'une cellule végétative quelconque. Enfin, contrairement à l'opinion de certains auteurs, nous pensons avec P. A. et P. Dangeard que cet exemple illustre parfaitement la théorie de l'indépendance des plastes et des mitochondries dans la cellule végétale.

Chapitre III

LA TIGE

A) HISTORIQUE

Les travaux d'anatomie et de morphologie de W. P. Schimper (1848) mentionnent les premiers, des détails intéressants sur la structure des cellules de la tige. C'est ainsi que Schimper note la présence d'une plus ou moins grande abondance de chloroplastes et d'amidon dans les différentes régions de l'axe. Dans son mémoire sur les Sphaignes (1857) il suit la différenciation des cellules de ces végétaux. L'insuffisance des méthodes d'étude cytologique employées jusque-là ne permettait pas l'obtention de résultats très complets. Aussi, ce n'est qu'avec les travaux de Rudolph (1912) et de P. Dangeard (1925) et grâce aux techniques modernes de fixation et de coloration, qu'on a des résultats précis sur le protoplasme des cellules de la tige. Chez *Fontinalis antipyretica*, P. Dangeard reconnut des chloroplastes et des mitochondries ou « cytosomes ». Plus tard (1928) Motte publia ses observations sur les tiges de *Hypnum fluitans* et de *Rynchostegium megapolitanum*. L'absence de chondriocontes dans la cellule adulte inclinerait cet auteur à admettre l'existence de « deux lignées mitochondriales » chez ces végétaux.

Nos propres résultats sur la cellule apicale, exposés dans le chapitre précédent, nous ont permis de formuler une conception différente ; les observations que nous avons effectuées sur la tige ne les infirment nullement ainsi que nous allons le voir.

B) ÉTUDE PERSONNELLE

1° **Scleropodium purum.**

On connaît le processus de segmentation de la cellule apicale qui se divise longitudinalement et successivement sur ses diverses faces. Les cellules engendrées ont alors sensiblement la même taille qu'elle ; mais elles ne la gardent pas longtemps : elles se partagent d'abord en deux, puis chacune des parties se segmente à son tour et contribue à donner à cette zone de multiplication l'aspect d'un tronc de cône. D'autre part, cette région surmonte le parenchyme assez peu chlorophyllien de la tige et tranche nettement sur lui. C'est en effet une zone d'intense multiplication de chloroplastes où les petites cellules parallélépipédiques qui la constituent (fig. 26) recèlent un matériel cytoplasmique important avec, d'une part, de nombreux chloroplastes à inclusion d'amidon unique et, d'autre part, des mitochondries toutes ponctiformes.

Les plastes entourent complètement le noyau ; le cytoplasme est dense et creusé de petites vacuoles. Le rapport nucléoplasmatique est des plus élevé ; c'est dans cette zone que le volume du noyau prend sa plus grande valeur par rapport au volume total de la cellule. Cette constitution est d'ailleurs en rapport avec l'intensité du métabolisme de ces cellules qui se multiplient et s'accroissent activement. Cette remarque est d'ailleurs corroborée par le fait qu'une fixation osmique (sans coloration ultérieure) permet de mettre en évidence dans cette seule région, des granulations lipidiques.

La cellule de la tige possède désormais tout le matériel cytoplasmique qui lui est nécessaire. Un peu plus âgée, elle ne compte pas davantage de chloroplastes ; ceux-ci sont simplement plus volumineux. Déjà, beaucoup d'entre eux possèdent des inclusions d'amidon doubles. Quant aux mitochondries, on les voit s'allonger en bâtonnets et même

refoulant le cytoplasme contre les membranes à mesure que la cellule s'accroît.

C'est enfin aux cellules adultes de la tige que nous nous sommes adressé pour voir s'achever le processus de différenciation que nous avons suivi depuis la cellule apicale. Mais alors que toutes les cellules de la zone de croissance possèdent la même architecture et présentent sur une coupe transversale des éléments analogues, il n'en est pas de même dans la tige, où je distinguerai, pour l'étude, trois types de tissus : (*a*) le parenchyme proprement dit, (*b*) les couches les plus externes de ce parenchyme, (*c*) le tissu axial de la tige fait de cellules spéciales ou hydroïdes.

a) Le parenchyme proprement dit de la tige est fait de grandes cellules polygonales aux dimensions variables (fig. 23). Dans ces cellules le chondriome est en majorité représenté par de longs filaments d'épaisseur régulière, rectilignes ou arqués sans inclusion d'aucune sorte. Les plastes atteignent peu à peu leur taille définitive : oblongs au début de leur évolution, ils deviennent de plus en plus globuleux à mesure qu'ils se chargent d'amidon, jusqu'à présenter une forme parfaitement sphérique. Les inclusions d'amidon, tout en s'accroissant, s'arrondissent elles-mêmes, refoulant la substance plastidaire qui ne devient qu'un mince revêtement de la réserve amylacée. Chlorophylliens au début, ils deviennent donc incolores.

b) Un second type de cellules nous est offert par les quelques rangées (trois le plus souvent), qui bordent les premières tout autour de la tige (fig. 24). Elles ne diffèrent pas essentiellement des précédentes si ce n'est par la taille (le 1/8 environ comme volume) et la différenciation des organites cytoplasmiques : les plastes (moins volumineux en général) n'y renferment pas la forte proportion d'amidon qui caractérise les plastes des cellules axiales. Ils sont davantage chlorophylliens. Les mitochondries d'autre part, y sont ponctiformes, et aucun des chondriocontes précédents ne

s'y montre : ce sont en somme des cellules dont l'activité est plutôt orientée dans le sens de l'assimilation chlorophyllienne que de la mise en réserve de matériaux nutritifs.

c) Un troisième et dernier type de cellules de la tige est enfin fourni par les cellules spéciales centrales ou « hydroïdes » dont le rôle conducteur a été mis en évidence (fig. 25). A peu près incolores sur le vivant, elles ne présentent, fixées, que des plastes dégénérés, petits, peu chlorophylliens. Quelques bâtonnets témoignent seuls de la présence d'un chondriome peu actif. Quant au cytoplasme il est surtout pariétal, laissant la majeure partie du volume à d'importantes vacuoles allongées. Le noyau conserve toujours une importance égale. Ce sont en somme des cellules dont le matériel cytoplasmique régressé indique la faible activité métabolique et où l'importance du vacuome explique le rôle primordial de ces hydroïdes dans la pseudo-vascularisation des Hypnacées.

2° Sphagnum cymbifolium.

La structure cellulaire de la tige est ici bien différente de ce qu'elle était chez *Scleropodium purum*. On ne retrouve pas, en effet, ces cellules « hydroïdes » axiales longues et étroites, si caractéristiques des Hypnacées. Chez les sphaignes, le rôle de tissu conducteur est réservé à des « hyalocystes » fonctionnant comme ceux des feuilles; ils sont situés au pourtour de la tige dont ils évitent la dessiccation en la maintenant dans une gaine constamment humidifiée. Quant aux cellules parenchymateuses adultes (fig. 22), elles sont de grande taille ; leur longueur atteint 7 et 8 fois leur largeur chez les cellules les plus périphériques. Leur volume ne cesse de croître jusqu'au centre de l'organe où se trouvent les plus volumineuses d'entre elles.

Si nous considérons ces cellules à un stade encore jeune, nous les voyons constituées d'un cytoplasme abondant au sein duquel sont de gros chloroplastes à inclusion amylifère,

ainsi que des filaments, des bâtonnets et des granulations qui représentent certainement le chondriome. De petites vacuoles ovoïdes sont creusées dans ce cytoplasme : nous les retrouverons d'ailleurs dans les cellules adultes où elles ont augmenté de taille, sans pour cela fusionner entre elles comme cela se passe ailleurs. Au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'extrémité apicale, le chondriome devient de moins en moins apparent si bien que dans les cellules adultes, il est impossible d'en distinguer la moindre trace. Par contre, les vacuoles en grandissant, s'enrichissent en tanins qu'il est facile de faire précipiter par le bichromate de potasse.

Au cours de cette évolution, les plastes ont atteint une taille élevée ; ils se prêtent alors parfaitement à une étude détaillée. Ils nous sont apparus lenticulaires grâce à leurs positions variables dans la cellule. Ce sont des chloroplastes comme on peut s'en rendre compte sur le vivant, mais qui possèdent d'autant plus d'amidon qu'ils sont plus âgés. Cet amidon présente la particularité remarquable, parmi les diverses espèces de Muscinées que nous avons étudiées, d'être toujours en inclusion sphérique et unique dans le plaste. (Nous n'avons observé qu'exceptionnellement des plastes à deux inclusions d'amidon). Nous avons de plus, observé l'accumulation de l'amidon à l'intérieur du plaste selon deux processus (fig. 27) : ou bien c'est au centre du disque plastidaire qu'apparaît une granulation et le stroma du plaste est refoulé symétriquement de part et d'autre de l'inclusion ; ou bien, c'est sur le bord du disque donc excentriquement, que débute la vésicule amylifère qui refoule vers le bord opposé la substance plastidaire et la réduit à une mince lunule. On aboutit dans ce cas à des grains d'amidon tout à fait semblables à ceux de certains Végétaux supérieurs (Pomme de terre par exemple).

A la périphérie des cellules parenchymateuses, nous avons noté la présence de cellules conductrices ou hyalocystes. Nous les étudierons en détail à propos des feuilles. Mais

notons qu'ici, comme dans la feuille, elles s'individualisent très tôt, grâce aux divisions longitudinales des éléments issus de la cellule apicale. Mais contrairement à elles, ces cellules restent petites, atteignant le 1/3 environ des cellules axiales. Leur membrane s'épaissit très vite, donnant à la tige des Sphaignes la teinte brique caractéristique. Bien vivantes au début de leur différenciation, leur contenu vacuolaire augmente rapidement et un pore se perce dans leur membrane. Dès lors le noyau se déforme, et le cytoplasme se tasse contre l'intérieur de la membrane. Les chloroplastes entrent en dégénérescence et la cellule se vide peu à peu de toute matière vivante.

C) CONCLUSION

La structure de la cellule de l'axe des Muscinées ne diffère guère en somme de celle de la cellule apicale ; il ne pourrait en être autrement, d'ailleurs, puisque c'est celle-ci qui est à l'origine de toutes les cellules de la tige. Les mêmes éléments protoplasmiques ont été retrouvés, en particulier les mitochondries et les plastes, avec des formes et des dimensions différentes, évidemment, de celles où ils se trouvent dans la cellule apicale (fig. 28).

Quant au système vacuolaire il est considérablement plus développé que dans cette cellule. Nous n'avons pas mis en évidence la présence de gouttelettes osmiophiles. Nous avons pu distinguer enfin à la suite de nombreux auteurs, la présence de diverses régions anatomiquement distinctes à l'intérieur de la tige ; le rôle physiologique de ces régions a d'ailleurs été assez nettement défini. Nous avons pu suivre dans chacune d'elles quelques modifications des différents organites cellulaires qui s'y trouvent ; nous avons constaté en particulier l'accentuation de la fonction amylogène au cours de l'évolution des plastes.

Chapitre IV

LA FEUILLE

A) HISTORIQUE

Les premiers bryologues qui furent avant tout des morphologistes et des anatomistes, donnèrent cependant quelques détails sur la cytologie de la feuille des Muscinées. Hedwig (1782), Morren (1841), Naegeli (1845), Schimper (1848-1857) consignèrent leurs observations sur le cytoplasme et les plastes des cellules à divers stades de leur évolution. Le manque de moyens d'investigation ne leur permit pas, malgré la délicatesse de certaines de leurs observations, d'interpréter correctement la structure de ces organes. Sapehin distingue pour la première fois, en 1913, les plastes des mitochondries. P. Dangeard, en 1925, au cours d'une étude sur *Fontinalis antipyretica*, note chez cette espèce l'analogie de constitution des cellules axiales et foliaires. C'est ensuite Motte, en 1928, qui s'occupe de la cytologie de la feuille s'attachant notamment à suivre le système vacuolaire ; l'ensemble de ces observations paraît favorable à l'idée d'une néoformation des vacuoles. Au sujet des granulations graisseuses, cet auteur pense qu'elles disparaissent rapidement dans la feuille âgée ; nous aurons l'occasion de voir que la généralisation de ce fait, valable certainement pour certaines espèces, ne paraît pas justifiée dans tous les cas.

Par suite de la facilité avec laquelle on peut les observer, les chloroplastes de la feuille des Mousses ont été très étudiés par les auteurs qui se sont occupés de la structure fine de ces éléments : Weier (1931-1932), Doutreligne (1935), Heitz (1936), Beauverie (1938), etc... Plus récemment encore, P. Dangeard (1944) s'est appuyé particulièrement

sur les Mousses dans l'étude générale qu'il a entreprise de la structure des chloroplastes. Il a montré en particulier que les chloroplastes des Mousses, comme ceux de certaines Phanérogames possèdent des *grana* colorables par les méthodes cytologiques après fixation. Il nous a été donné d'étendre ces résultats à un certain nombre d'espèces de Muscinées.

B) ÉTUDE PERSONNELLE

1° Scleropodium purum.

Les jeunes feuilles apparaissent très précocement. Elles forment immédiatement à côté de la cellule apicale des mamelons papilliformes dont la taille ne cesse de croître à mesure qu'on s'éloigne du sommet de l'axe. D'abord formés par une seule cellule (fig. 32), ces mamelons sont bientôt divisés par des parois successives. La cellule initiale de la feuille dérive, ainsi que nous l'avons vu, de l'apicale de la tige. Aussi sa structure présente avec cette dernière une profonde analogie. Elle est cependant moins volumineuse. Son protoplasme est creusé de nombreuses et petites vacuoles. Au sein du cytoplasme, extrêmement dense, nous n'avons constaté la présence que de quelques granulations très chromophiles et de rares bâtonnets. Tout comme dans la cellule apicale de la tige, on y trouve des chloroplastes de taille sensiblement égale. Certains d'entre eux présentent des inclusions amylifères.

Quel est le rôle de cette cellule initiale ? On peut constater que pendant quelque temps, elle va jouer un rôle analogue à celui de la cellule génératrice de l'axe. Mais alors que cette dernière se divise alternativement selon ses faces longitudinales, l'initiale de la feuille se divise alternativement selon deux directions opposées seulement. Elle détermine ainsi une lame cellulaire perpendiculaire au plan de clivage, monocellulaire dans sa partie distale et atteignant plusieurs épaisseurs dans sa partie proximale.

Examinons une jeune feuille d'environ 2 mm. 5 à 3 mm. de long. Elle est terminée par une cellule initiale en pleine activité prolifératrice : ce qui frappe le plus lorsqu'on l'examine, c'est que tous les plastes y sont en division. Les mitochondries punctiformes et le cytoplasme dense sont répartis autour de multiples petites vacuoles. Une cellule basilaire de la même feuille présente alors un aspect sensiblement différent : les vacuoles y sont beaucoup plus grandes et surtout les plastes étant en majorité en état de repos, présentent une inclusion amylifère. Nous avons donc là affaire à un organe en état de croissance surtout apicale.

Puis assez rapidement, au fur et à mesure que la feuille accomplit sa croissance, la cellule apicale perd ses caractères embryonnaires. Nous constatons alors chez la feuille adulte, une structure quelque peu différente de celle que nous venons de décrire il y a un instant.

Les cellules de l'extrémité distale (fig. 35) sont largement vacuolisées ; les plastes volumineux s'arrondissent et leur teneur en amidon croît ; les bâtonnets mitochondriaux s'allongent en filaments longs et flexueux : nous avons là, en somme, une architecture cellulaire équivalente à celle des cellules adultes de la tige. Quant aux cellules proximales, tout indique qu'elles sont en division : leurs chloroplastes de taille très réduite montrent de nombreuses figures de bipartition ; les inclusions amylifères y sont rares. Les vacuoles ne sont pas fusionnées comme à l'extrémité distale, et le chondriome, sans doute très actif, reste divisé à l'état de granulations punctiformes. La feuille continuant à s'accroître après l'arrêt de la multiplication apicale, c'est donc un accroissement basilaire qui lui succède et qui contribue à lui donner sa forme définitive.

Les quelques constatations morphologiques que nous venons d'exposer nous permettent d'imaginer, au moins pour l'espèce envisagée, *Scleropodium purum*, le processus qui préside à la différenciation des cellules foliaires. Nous

nous attacherons maintenant à étudier la structure de ces cellules dans des espèces plus favorables à l'examen, en particulier dans le genre *Mnium*. Elles nous montreront, en effet, un ensemble de faits des plus caractéristiques de la cytologie des Muscinées. Nous les rapprocherons ensuite d'observations effectuées sur des espèces phylogéniquement éloignées de celles-ci, et nous tenterons d'effectuer une synthèse de ces divers résultats.

2° Mnium punctatum.

Comme chez toutes les espèces du genre *Mnium* qu'il nous a été donné d'examiner, l'observation des cellules foliaires est des plus favorables. Dans les feuilles adultes, des cellules de grande taille (100 μ sur 50 μ environ) et polygonales sont disposées en une seule couche (fig. 29). Les chloroplastes y sont nombreux et très développés, masquant partiellement le reste du contenu cellulaire. Dans les cellules du limbe, ces plastes serrés prennent des contours polygonaux ; dans celles de la pseudo-nervure ou mieux encore du pourtour de la feuille, les plastes sont moins nombreux et d'aspect arrondi ; ces régions apparaissent en effet beaucoup moins chlorophylliennes.

Malgré l'abondance des chloroplastes, les cellules du limbe laissent voir, avec un éclairage suffisant, un cytoplasme homogène formant des travées délicates entre des vacuoles importantes déformées par compression réciproque. Ce cytoplasme revêt intérieurement la membrane cellulaire et la tapisse d'une couche d'épaisseur sensiblement constante ; c'est au sein de ce cytoplasme pariétal qu'on trouve souvent le noyau d'aspect vésiculeux. Des microsomes lipidiques l'accompagnent, facilement mis en évidence par l'acide osmique.

Observés vitalement, les chloroplastes se présentent sous forme de gros corpuscules sphériques d'environ 10 μ de diamètre. Certains présentent des formes de division dont il

a toujours été impossible de suivre les progrès tant celle-ci est lente. Une observation attentive permet d'autre part de se rendre compte de la présence d'amidon à l'intérieur du plaste lui-même. Malgré la présence de cet amidon (qu'il est facile de mettre en évidence par l'iode) ces plastes présentent d'autre part une incontestable structure hétérogène : des *grana* (selon la terminologie de A. Meyer) se détachent en effet sur le *stroma* du chloroplaste. Ces *grana* ne peuvent être confondus avec des granulations lipidiques dont pourrait s'envelopper le plaste : l'acide osmique, en effet, n'est pas réduit à leur niveau, comme l'a noté P. Dangeard (1944). Ce sont des grains (comme l'indique l'étymologie du mot) intimement liés au *stroma* sur lequel ils sont situés de façon régulière. Contrairement à un grand nombre d'autres végétaux leur forme est ici spéciale : fusiformes, ils font penser à de petites navettes plus réfringentes que le *stroma* du plaste lui-même. Heitz pense que cette forme discoïde aplatie est générale ; mais on ne peut étendre, ainsi que nous le verrons, cette conclusion à tous les cas de structure granulaire. Leur taille atteint environ 2 μ de long sur 0,8 μ de large. Ces *grana* contribuent à donner au plaste un aspect strié.

Cette façon de voir est corroborée par l'étude de ces mêmes plastes après fixation au Regaud et coloration à l'hématoxyline ferrique (fig. 31). Notons, à ce sujet, que cette technique nous a paru très supérieure à la coloration par la fuchsine acide employée selon Altmann. On a là, en effet, une méthode très délicate dont l'emploi judicieux nous renseigne avantageusement sur la différenciation des structures.

Après surcoloration, une faible régression laisse voir sur un stroma coloré des *grana* foncièrement noirs, apparaissant punctiformes, et non en fuseau comme sur le vivant. Cette modification de forme est sans doute le fait d'une contraction due à la déshydratation. Si la régression est poussée davantage, les *grana* se décolorent et seul, le *stroma* reste

coloré. A ce moment, les enclaves d'amidon apparaissent limitées seulement par le *stroma* coloré. Ces inclusions correspondent parfaitement à l'allure générale de celles observées sur le vivant. Simples dans les plastes de faible taille, elles ne cessent de se compliquer par des cloisonnements successifs lorsque le plaste augmente de volume. Un fait analogue a été constaté pour les plastes de la tige dans la même espèce. On peut mettre en évidence l'amidon de ces plastes en le colorant avant le montage, par une solution iodée. La différenciation à l'alun doit cependant être moins poussée, car l'iode fait naturellement régresser l'hématoxyline.

En nous attachant à poursuivre l'étude anatomique du plaste nous avons essayé de voir quels pourraient être les rapports entre *grana* d'une part, et *stroma* d'autre part ; c'est ainsi que nous nous sommes posé la question de savoir si les *grana* qui apparaissent si nettement à la surface des plastes, n'étaient pas situés à leur périphérie sur une membrane plastidaire ?

A cet effet, nous avons répété avec les cellules foliaires de *Mnium punctatum* les expériences de vésiculisation des plastes, déjà effectuées par Beauverie (1928-1938) et reprises par P. Dangeard (1942) avec une interprétation plus exacte à notre sens. Après séjour convenable dans l'eau distillée, on constate un gonflement général du plaste accompagné d'un arrondissement des *grana* et d'une augmentation de leur volume (fig. 30). Puis le *stroma* du plaste ne tarde pas à se déformer et bientôt une vésicule incolore fait saillie sur le plaste ; c'est la membrane plastidaire qui est distendue, gonflée, du fait de la pénétration de l'eau distillée entre elle et le reste du plaste. Cette vésicule aqueuse gonfle d'ailleurs en même temps que se tasse le *stroma* sur lequel, du fait de la contraction, toute structure devient invisible. Ce montage dans l'eau distillée permet donc de constater ;

a) l'existence dans ces plastes d'une membrane plasti-

daire incolore, puisqu'on n'y relève aucune trace de chlorophylle.

b) l'absence de *grana* situés directement à la surface du plaste ; l'observation du *stroma* pendant la vésiculation permet de penser qu'ils sont intimement liés à la substance plastidaire.

3° Mnium rostratum.

C'est encore un examen intéressant qu'offre la feuille de *Mnium rostratum* aux grandes cellules chlorophylliennes disposées en une seule couche, se prêtant bien à l'observation. Il n'est pas indifférent de noter que les plastes, durant le jour, sont moins abondants sur la face ventrale, directement éclairée, que sur la face dorsale. L'étude vitale pratiquée sur ces deux faces foliaires est donc des plus instructives : l'une, la plus chlorophyllienne, permet d'étudier avec quelques détails le plastidome, l'autre plus transparente, permet de suivre les aspects divers du cytoplasme qui, comme nous le verrons, méritent d'être notés.

Observation vitale. — La cellule de *Mnium rostratum* possède dans le plan de la feuille un contour polygonal (fig. 33). Elle est légèrement bombée sur ses deux faces libres, bombement qui est dû à la turgescence de la vacuole centrale. Tout comme chez *Mnium punctatum* les membranes cellulaires sont revêtues intérieurement d'une couche de cytoplasme. Dans ce cytoplasme on distingue le noyau cellulaire, globuleux, à structure finement ponctuée et sur lequel se détachent un ou deux nucléoles. Des trabécules cytoplasmiques se détachent de cette couche pariétale et traversent ainsi, d'une extrémité à l'autre parfois, la vacuole centrale qui nous a toujours semblé unique. Souvent ces trabécules naissent au niveau d'un plaste, faisant croire, si l'on n'y prenait garde, à un prolongement de la substance plastidaire. D'autres fois, 2 ou 3 de ces trabécules prennent naissance au niveau du noyau (fig. 39). Ils peu-

vent s'anastomoser et se diviser à l'intérieur de la vacuole centrale. Comme le reste du cytoplasme, ces trabécules présentent le long de leur trajet des granulations fort ténues qui pourraient bien être des mitochondries punctiformes et des inclusions plus réfringentes de diamètre plus important qui sont des gouttelettes lipidiques. On ne rencontre jamais de plaste sur leur trajet intravacuolaire.

Il existe d'autre part, au sein du cytoplasme de ces cellules, un véritable réseau de filaments allongés ; beaucoup d'entre eux semblent naître des chloroplastes (fig. 34). Ils présentent la propriété de se déplacer de façon constante dans le cytoplasme. Ce mouvement n'est d'ailleurs pas aisé à suivre, d'où l'intérêt de choisir une surface foliaire pauvre en chloroplastes. Il est de plus difficile à noter, car il se superpose, au mouvement général de cyclose des plastes qui se meuvent incessamment le long des parois cellulaires. En dessinant soigneusement à la chambre claire certains filaments à partir de l'une de leurs origines par exemple, on peut se faire une idée de leurs déplacements. Certains d'entre eux ne sont visibles qu'entre deux plastes seulement (fig. 36), aussi donnent-ils l'idée d'un « pont » entre ces plastes. Nous aurons l'occasion d'étudier des formations filamenteuses analogues dans la feuille de *Funaria hygrometrica.*

Les chloroplastes. — Leur forme globuleuse et leur grande taille permettent d'en faire une étude détaillée. Ils apparaissent quelquefois sous une forme à peu près sphérique ; ils sont le plus souvent découpés, soit qu'ils laissent prévoir une division, soit qu'ils émettent des digitations.

Nous avons remarqué que la forme sphérique est constante pour les plastes des cellules où ils sont peu abondants. Au contraire, partout où les plastes occupent la plus grande surface qui leur est offerte, ils apparaissent plus lobés et digités. Peut-être faut-il voir dans cet accroissement de la surface plastidaire, une réaction de la cellule

tendant à augmenter ses échanges en fonction du nombre d'éléments qui la composent.

Ces plastes laissent voir sur le vivant un *stroma* fortement chlorophyllien parsemé de *grana* très apparents. L'amidon n'existe pas dans tous les plastes des cellules voisines de la pseudo-nervure : celles-ci en contiennent presque toutes, alors que les cellules marginales du même niveau en sont dépourvues ou en contiennent peu. Cet amidon se présente en inclusions lenticulaires comme en témoignent les dessins.

Les *grana* accompagnent toujours les chloroplastes même quand ceux-ci contiennent une ou plusieurs inclusions amylifères. On peut alors faire les remarques suivantes (fig. 37) :

a) Dans les plastes peu amilifères, les *grana* sont punctiformes et de taille ordinaire, c'est-à-dire de même diamètre que dans les plastes sans amidon.

b) A mesure que le plaste s'enrichit en amidon, la taille de ces *grana* semble rester constante, mais ils apparaissent de plus en plus en relief sur le *stroma* chlorophyllien. Au point de vue de leur répartition, ils sont plus clairsemés au-dessus des inclusions amylifères que sur le reste du *stroma*.

c) Les *grana* ne sont plus apparents sur l'enveloppe plastidaire de l'amidon lorsque celui-ci prédomine nettement. Le reste du *stroma* chlorophyllien est alors vert très foncé. On y distingue avec un éclairage convenable de multiples *grana* tassés et très en relief.

Il paraît résulter de ces diverses observations que les *grana* ne sont pas situés uniquement dans la partie la plus périphérique du plaste, mais répartis également à l'intérieur de ce plaste ; cette manière de voir qui est également celle de P. Dangeard, paraît se déduire du fait de la concentration granuleuse au niveau du *stroma* lorsqu'il y a accumulation d'amidon. La polymérisation des glucides en amidon entraînerait donc une déshydratation du *stroma* plastidaire et comme conséquence une accentuation de la structure granuleuse.

Action comparatives de quelques fixateurs sur les chloroplastes. — Nous avons tenté, comme d'ailleurs pour toutes les espèces étudiées, de suivre l'action de quelques fixateurs sur les plastes foliaires de *Mnium rostratum.* Nos observations ont alors porté sur des cellules entières de la feuille montée comme pour l'observation vitale, avec ou sans coloration ; après quoi, le même matériel a été examiné en coupe après coloration par l'hématoxyline ferrique.

Examen de cellules entières sans coloration. — Les fixateurs mitochondriaux ordinaires conservent remarquablement le cytoplasme et les plastes, sans déformation notable (Regaud et Benda-Mèves). Les *grana* conservent sensiblement la même forme qu'ils avaient sur le vivant ; ceci tient certainement au fait que le plaste garde sa forme initiale et la cellule sa turgescence normale. Les formations amylifères restent imprécises (sans coloration) comme sur le vivant. L'acide osmique du liquide de Benda-Mèves est réduit au niveau de petites granulations lipidiques, situées soit dans le cytoplasme pariétal, soit dans les trabécules qui en partent. Le liquide de Helly donne également une très bonne fixation du cytoplasme. Les *grana* sont cependant plus accusés qu'avec le Benda-Mèves. L'amidon nous a paru invisible sans coloration au Lugol.

Bien différente nous est apparue la structure des plastes après fixation au liquide de Nawaschin : ils sont incontestablement modifiés dans leur forme générale par ce liquide fixateur. Les contours sont beaucoup plus réguliers, avec moins d'apophyses. Par contre, les *grana* sont plus accentués. Ils prennent ici l'aspect de petites vésicules ; certaines de ces micro-vésicules sont très apparentes sur le bord du plaste duquel elles se détachent nettement.

Un résultat sensiblement analogue est obtenu avec le liquide de Bouin-Hollande dont l'élément fixateur essentiel est aussi l'acide acétique (fig. 38). La teinte verte est cependant conservée par ce fixateur même après un passage pro-

longé dans l'alcool à 80°. Il paraît y avoir ici modification de structure de la molécule de chlorophylle sous l'influence de l'acide picrique et de l'acétate de cuivre ; la chlorophylle est de ce fait insolubilisée.

L'alcool absolu lui-même a été employé comme agent fixateur. On peut suivre sous le microscope son action désorganisatrice sur le cytoplasme. Il modifie lui aussi la forme générale du plaste, mais il accuse la structure granuleuse en même temps qu'il décolore rapidement le *stroma.*

Examen des coupes colorées. — De l'étude ainsi poursuivie il résulte que les fixateurs les plus différents conservent les *grana* des plastes. Mais cette fixation de la structure plastidaire a une valeur inégale comme nous allons le voir. Des feuilles fixées au Regaud et débitées en coupes ont été colorées par l'hématoxyline ; une différenciation très délicate a permis dans des cas exceptionnels de révéler les *grana*, mais ceux-ci disparaissent rapidement pour laisser voir le *stroma* coloré. Bien différents sont les résultats obtenus à partir du même matériel et fixé par le Bouin-Hollande ou le Nawaschin par exemple. Après différenciation convenable, les *grana* sont remarquablement conservés sur le plaste en même temps que le *stroma* reste coloré et que les enclaves d'amidon sont parfaitement incolores.

Nous conclurons donc de cette étude comparative que les fixateurs mitochondriaux, le Regaud en particulier, nous paraissent excellents pour examiner la morphologie générale du cytoplasme ou des plastes. Pour connaître plus en détail la structure de ces plastes, il faut s'adresser à des fixateurs plus rapides qui saisissent mieux sur le vivant les structures et les momifient sans les altérer. C'est ainsi que les liquides à base d'acide acétique ou d'alcool d'une pénétration plus rapide que ceux constitués de bichromate, nous permettent de mieux saisir sans les atténuer les *grana* dont l'existence nous avait été révélée par l'observation vitale (analogie d'action de ces mêmes agents fixateurs

sur le réseau de chromatine du noyau cellulaire) (Malvesin-Fabre, 1945). Ceci vérifie bien les observations de P. Dangeard non seulement chez les Mousses mais encore chez diverses Phanérogames.

4° Funaria hygrometrica.

La cellule foliaire de *Funaria* se prête fort bien à l'observation, vu sa grande taille ; les chloroplastes y sont nombreux et ils constituent un matériel classique d'étude puisque Schimper les avait déjà reconnus et figurés en 1848 (fig. 41). Ces plastes sont situés à l'intérieur de la couche pariétale de cytoplasme où l'on peut également voir vitalement un gros noyau finement réticulé comportant le plus souvent un seul nucléole. La forme de ces plastes varie : ils sont tantôt sphériques, tantôt lenticulaires, très souvent même ils se présentent sous forme de fuseau très renflé en son milieu, et aux extrémités effilées. Beaucoup d'entre eux présentent un étranglement médian annonçant une bipartition prochaine. Le processus de cette bipartition ainsi que nous avons eu l'occasion de le dire ailleurs, n'a jamais pu être suivi entièrement sous le microscope ; la lenteur avec laquelle il se déroule est seule responsable de cet insuccès, malgré de nombreuses tentatives. C'est sans doute à cette même lenteur dans les phénomènes de morphogenèse qu'il faut attribuer la persistance de la forme en fuseau de nombreux plastes après la bipartition ; c'est seulement dans les cellules foliaires les plus âgées qu'ils sont tous rendus au stade sphérique ou ovoïdes.

Observés vitalement, ces plastes présentent une belle structure granulaire conservée par les divers fixateurs employés avec les mêmes modifications que nous avons notées plus haut. Les *grana* sont ici punctiformes et d'un diamètre bien plus restreint que ceux de *Mnium punctatum*. (Dans les plastes plus ou moins nécrosés des feuilles âgées ils sont plus volumineux). Malgré la présence des *grana* il est possible de

voir à l'intérieur du plaste une inclusion amylifère colorable en bleu-noir par l'iode.

Au sein du cytoplasme et dans les régions non chlorophylliennes de la cellule, on peut encore observer des globules osmiophiles de taille inégale ; ces granulations sont groupées par 3, 4, 5, 6 d'une façon quelconque dans la cellule. Leur réfringence ainsi que leur taille empêchent de les confondre avec les mitochondries.

L'espèce étudiée ici est assez favorable à l'observation du chondriome dont l'étude chez les Muscinées est toujours délicate. Ces mitochondries sont en effet peu visibles *in vivo* dans la feuille des Mousses, soit parce que leur nombre est réduit, soit que leur réfringence ne permette pas de les distinguer du cytoplasme. Chez *Funaria*, elles se montrent sous forme de granulations très ténues et de courts bâtonnets (fig. 44). Il nous a semblé parfois, que quelques-uns de ces bâtonnets présentaient des stades de bipartition en haltères. Ces mitochondries sont conservées par le Regaud et se colorent très bien par l'hématoxyline ; dans des préparations ainsi traitées nous avons vu quelques-uns de ces organites groupés en petites chaînettes moniliformes.

L'observation vitale de ces feuilles de *Funaria* permet encore de se rendre compte de l'existence, dans les parties non chlorophylliennes de la cellule, de formations spéciales que nous appellerons « formations filamenteuses ». Nous sommes heureux, à ce sujet, de remercier encore une fois P. Dangeard d'avoir attiré notre attention sur ce fait déjà connu depuis Senn, Boresch et d'autres, mais non mentionné par les auteurs qui se sont occupés récemment de Bryophytes.

Il suffit d'un examen attentif pour se rendre compte en effet, de la présence au sein du cytoplasme, de filaments d'une minceur uniforme, non rectilignes mais suivant au contraire des trajets sinueux. Ces formations s'anastomosent parfois, donnant l'impression d'une véritable trame aux mailles de forme quelconque (fig. 42 et 43). Il faut noter

que la plupart de ces filaments ont leurs extrémités en relation avec les chloroplastes de la cellule : souvent on peut observer leur insertion aux extrémités effilées des plastes fusiformes ; d'autres fois, cette insertion se trouve en un point quelconque du plaste et étire à cet endroit le stroma plastidaire. Certains plastes peuvent ainsi être en relation avec plusieurs filaments ; mais ceux-ci peuvent aussi traverser la cellule en les évitant et passer au-dessus ou au-dessous de l'un d'entre eux. On ne rencontre que rarement un de ces filaments dont une extrémité est libre dans la cellule. En observant vitalement ces formations on les voit se déformer : mais il est difficile d'affirmer si ces mouvements leur sont propres, ou bien s'ils sont la conséquence de la cyclose qui entraîne les plastes et avec eux ces filaments avec qui ils sont en relation.

Comment interpréter ces formations filamenteuses ? Il semble qu'elles résultent de la division des plastes : le stade d'haltère précédant la bipartition pourrait en effet être suivi d'un étirement de la membrane plastidaire qui persisterait ainsi longtemps après la séparation des plastes fils. Une telle conception paraît vraisemblable vu la forme des régions d'insertion régulièrement étirées et l'impossibilité pour l'observateur de distinguer exactement la région où finit le plaste et où commence le filament. La présence de plusieurs points d'insertion sur un même plaste s'expliquerait alors par les divisions successives de celui-ci au cours de la croissance de la cellule.

D'autre part, certaines formations filamenteuses analogues pourraient représenter un réseau de fins trabécules cytoplasmiques à travers la vacuole centrale. Ces trabécules se colorent en effet par l'iode tout comme le cytoplasme pariétal duquel certains d'entre eux prennent naissance ; ils traversent la vacuole centrale et peuvent parfois être confondus *in vivo* avec les formations filamenteuses que nous venons de décrire ; ils ont comme celles-ci une épaisseur constante, différant en cela des trabécules cytoplasmiques

si communs dans les cellules épidermiques des végétaux supérieurs. Ils sont eux aussi soumis à des déplacements constants à l'intérieur de la cellule.

5° **Atrichum undulatum.**

La constitution de la cellule d'*Atrichum* ne diffère pas essentiellement de celle de *Funaria hygrometrica* ; les chloroplastes qui sont en grand nombre dans le cytoplasme pariétal sont sphériques le plus souvent dans les cellules des jeunes feuilles du bourgeon et lenticulaires dans les feuilles âgées. Les uns comme les autres présentent une structure granulaire ainsi que de nombreuses inclusions amylifères fusiformes. Ces plastes sont également reliés entre eux par des formations filamenteuses analogues à celle de *Funaria*. Nous avons remarqué que ces filaments sont moins nombreux et moins longs, mais plus larges dans les feuilles très jeunes du bourgeon que dans les feuilles adultes de la tige (fig. 40) ; ceci peut être dû au peu de bipartitions qui n'ont engendré qu'un nombre réduit de plastes durant le début du développement de cette jeune feuille.

La feuille d'*Atrichum undulatum* ne nous a guère paru favorable pour l'observation vitale des mitochondries. Par contre nous avons remarqué dans toutes les cellules étudiées une assez grande abondance de substances lipidiques, sous forme d'inclusions sphériques réfringentes, de taille inégale, réparties de façon quelconque dans la cellule (fig. 47).

6° **Hookeria lucens.**

Les grandes cellules foliaires de cette espèce assez rare, constituent un matériel de choix pour l'observation vitale du cytoplasme. Les plastes dont certains présentent un début de bipartition ont une fine structure granuleuse. Au sein du cytoplasme il faut noter la présence de longs fila-

ments déformables dont l'origine nous paraît être également dans la division plastidaire ; certains d'entre eux ont une extrémité libre (fig. 45 et 46). A côté d'eux on trouve des formations également filamenteuses mais de bien plus courte taille et paraissant entièrement libres dans le cytoplasme ; peut-être résultent-elles de la fragmentation des formations précédentes. Les travées non chlorophylliennes de cytoplasme permettent encore de voir un chondriome relativement abondant : mitochondries punctiformes, petits bâtonnets, chondriochontes allongés. Des globules lipidiques très réfringents se trouvent en petit nombre à l'intérieur de ce cytoplasme.

7° Mnium undulatum.

Les feuilles de cette espèce se prêtent aussi facilement à l'étude vitale du contenu cytoplasmique, quoique les chloroplastes soient abondants et serrés ; de plus, les cellules sont de taille bien inférieure à celle des espèces examinées jusque-là. Une mince couche de cytoplasme tapisse intérieurement la membrane d'enveloppe. C'est dans ce cytoplasme pariétal qu'on trouve les chloroplastes de grande taille, globuleux et présentant souvent des figures de division. Ils tapissent à peu près parfaitement toute la membrane cellulaire. On peut distinguer à leur surface et sans artifice de préparation une structure faite de *grana* allongés. Ces *grana* sont orientés de façon précise sur des lignes hélicoïdales dont il est aisé de suivre le parcours (fig. 51). A l'intérieur de ces plastes, l'iode met en évidence une ou deux inclusions d'amidon ovoïdes ou lenticulaires.

La cellule de *Mnium undulatum* recèle en outre une grande quantité de globules réfringents, de taille inégale ; ils réduisent fortement l'acide osmique. Ces globules se trouvent au-dessus de la vacuole centrale qu'on peut colorer vitalement au rouge neutre ; ils semblent d'autre part être disposés dans le cytoplasme selon de longues chaînettes ou mieux

comme les grains d'un chapelet (fig. 52). Les lignes selon lesquelles ils sont disposés décrivent des trajets sinueux et rappellent étroitement ceux des filaments observés dans d'autres espèces (*Atrichum undulatum*, *Funaria hygrometrica*, *Mnium rostratum*, etc.). Aussi, nous ne sommes pas éloigné de penser que les granulations osmiophiles de la feuille de *Mnium undulatum* sont insérées le long de formations filamenteuses analogues à celles décrites par ailleurs. Quoique invisibles sur le vivant, l'existence de ces filaments nous paraît indubitable vu l'alignement parfaitement régulier des granulations sphériques. Quant à la nature chimique de ces granulations qui se colorent en brun par l'eau iodo-iodurée et déjà décrites par quelques auteurs, nous pensons qu'il s'agit de granulations lipoïdiques du type des lécithines (P. Dangeard et J. Eymé, 1947).

8° Fontinalis antipyretica.

Cette espèce est également propice à l'examen du cytoplasme et de ses inclusions. Les longues et étroites cellules foliaires ont les parois tapissées par de nombreux chloroplastes qui laissent voir une structure finement granuleuse (fig. 48). Très peu d'entre eux montrent des figures de division. Le centre de la cellule est occupé, comme dans l'espèce précédente, par de nombreuses vacuoles prenant bien le rouge neutre (fig. 50), de taille inégale, séparées par de fines cloisons cytoplasmiques. Ce réseau délicat de cytoplasme (fig. 49) laisse voir dans des cas favorables des granulations très ténues au niveau desquelles l'acide osmique est réduit. On a donc vraisemblablement affaire là, à des excrétats lipidiques.

Remarque. — Nous avons rapproché à dessein l'étude de la structure de *Mnium undulatum* et celle de *Fontinalis antipyretica*.

Les cellules foliaires de ces deux espèces présentent en

effet des analogies qu'il convient de souligner ; c'est en particulier la présence, dans le réseau cytoplasmique limitant les vacuoles, d'une quantité considérable de granulations osmiophiles de taille très réduite. (On trouve ailleurs, comme nous l'avons indiqué pour d'autres espèces, des gouttelettes de corps osmiophiles, mais d'un diamètre toujours supérieur et jamais en si grand nombre). Les nombreuses observations effectuées sur des feuilles d'âge quelconque et en parfait état, permettent d'affirmer que ces lipides se trouvent normalement dans les cellules saines.

Or, ces espèces demandent pour se développer un milieu dont la teneur en eau soit élevée (*Fontinalis* : espèce franchement aquatique ; *Mnium undulatum* : espèce demandant un état hygrométrique élevé). On peut donc voir dans cette analogie de structure et de constitution une adaptation convergente de la cellule à l'état hydrique du milieu. La fragmentation du vacuome en liaison avec cet état hydrique n'est d'ailleurs pas propre à la feuille, mais peut tout aussi bien se rencontrer dans la tige ; chez *Fontinalis*, comme en témoignent les figures données par P. Dangeard ou chez *Sphagnum cymbifolium* (que nous avons étudié par ailleurs), les cellules axiales présentent une parfaite analogie de constitution, quant au vacuome, avec ces cellules foliaires.

Remarques sur la différenciation anatomique et sur la cytologie des feuilles de Sphagnum cymbifolium. — Nous avons observé la constitution cellulaire des feuilles de *Sphagnum cymbifolium* aux différents stades de leur évolution. On trouve en effet dans les feuilles adultes de *Sphagnum* deux catégories de cellules : les unes chlorophylliennes ou *chlorocystes* longues et étroites, bien vivantes, formant un réseau dont les mailles comprennent de grandes cellules mortes ou *hyalocystes* qui se remplissent d'eau. L'ensemble de la plante peut ainsi retenir une grande quantité de liquide et jouer en quelque sorte le rôle d'une éponge.

Soit tout d'abord une feuille jeune entourant un bourgeon. En coupe parallèle à la surface du limbe, cette feuille présente de petites cellules régulières en forme de losanges dont le grand axe est allongé suivant la plus grande dimension de la feuille (fig. 53). Le cytoplasme de ces cellules est abondant et nous n'y avons pas observé de vacuoles. On y trouve un énorme noyau à nucléole toujours bien visible, entouré de très nombreux chloroplastes ovoïdes, dans lesquels on peut mettre en évidence la présence de petite quantité d'amidon. Quant au chondriome, il n'est représenté que par de minuscules granulations, très constantes, mais relativement peu abondantes.

A un stade plus avancé, les cellules du limbe foliaire présentent une disposition différente. En effet, dans la région apicale, puis ensuite sur les bords de la feuille à partir de cette région, on assiste à l'intérieur des cellules existantes à deux divisions successives (fig. 54). Une première cloison (1-1) parallèle à une face, isole une cellule étroite : c'est la première ébauche d'un chlorocyste. Aussitôt après, une seconde (2-2) membrane cellulaire isole une cellule plus courte, mais de même largeur que la première : c'est l'ébauche d'un second chlorocyste, dont la largeur est définitivement acquise. Quant à la cellule foliaire primitive, sa taille est évidemment réduite d'autant ; elle reste cependant losangique, et c'est elle qui, tout en s'accroissant, va se déformer et donner un hyalocyste.

Après avoir décrit rapidement ce processus de différenciation, nous devons faire quelques remarques. Les cloisons qui individualisent les chlorocystes des hyalocystes à partir des cellules foliaires initiales apparaissent, non au hasard, mais dans un ordre et à une place rigoureusement fixés. (Notons que c'est toujours dans la partie supérieure de chaque cellule, c'est-à-dire la plus proche de la région apicale, qu'ont lieu ces divisions). D'autre part, les cellules qui en résultent ne prendront part à aucune division ultérieure. Comme nous l'avons énoncé plus haut, c'est sur les bords

et à partir du sommet que débute cette différenciation ; quant au reste du limbe foliaire, il demeure le lieu de multiplication active des cellules losangiques « primordiales ». L'accroissement des feuilles chez *Sphagnum cymbifolium* suit donc bien la règle des initiales énoncées par Douin ; la croissance n'est pas apicale, mais basilaire (et intermédiaire pendant peu de temps).

Nous remarquerons enfin que les hyalocystes des feuilles adultes, énormes cellules vides de toute matière vivante, résultent de la différenciation de cellules bien vivantes à gros noyau et à contenu cytoplasmique important. Mais au fur et à mesure que ces cellules augmentent de taille, les vacuoles augmentent de volume (fig. 55). Alors que chez les chlorocystes on note un accroissement considérable des plastes aux *grana* bien visibles, il semble qu'ici il y ait disharmonie entre l'augmentation de surface de la membrane et du volume des vacuoles d'une part, et l'accroissement du protoplasme de l'autre. On se rend très bien compte de cette sorte de « crise de croissance » des hyalocystes sur des coupes transversales de feuilles : minces travées de cytoplasme contenant çà et là des plastes qui ne se divisent plus, noyaux déformés, chondriome très divisé mais inséparable de granulations qui semblent être le produit d'altération du cytoplasme et de la dégénérescence des plastes (fig. 56). De grandes vacuoles rendent turgescentes ces cellules dont la membrane d'enveloppe ne cesse de s'accroître et où bientôt un pore va se percer. A ce moment le cytoplasme devient de plus en plus granuleux, les plastes diminuent de taille et bientôt seront invisibles (fig. 57). C'est le noyau qui résistera le plus longtemps à la lyse de toute cette matière vivante. En faisant agir le Lugol sur des feuilles adultes, on le retrouve parfois dégénéré et déformé, collé à la paroi interne des hyalocystes avec quelques traînées de cytoplasme.

C) CONCLUSION

L'étude cytologique de la feuille des Mousses présente donc un réel intérêt. Les chloroplastes ont particulièrement retenu notre attention. Dans tous les cas étudiés ils nous ont présenté une structure granulaire. Contrairement à l'opinion de Beauverie, et conformément à celle de P. Dangeard, il nous a semblé que les *grana* se trouvaient non seulement en surface, mais dans la profondeur du plaste. Quant au pigment chlorophyllien, il paraît imprégner non seulement les *grana*, mais aussi le *stroma*. D'après certains auteurs, la généralité de la structure granulaire observée chez les Muscinées serait liée à l'écologie (Heitz pense notamment que les *grana* sont abondants chez les Mousses parce que ce sont des végétaux sciaphiles). Or, il a été démontré que cette structure se retrouve chez un nombre important de végétaux supérieurs. Il semble donc plus logique de penser qu'elle correspond à un état physico-chimique particulier des colloïdes du plaste. Outre cette structure, les chloroplastes présentent fréquemment des inclusions amylifères plus ou moins compliquées, comme chez les Végétaux supérieurs. De plus, ils présentent la propriété de réduire le nitrate d'argent en solution aqueuse, à condition toutefois que les cellules observées ne soient pas lésées.

Les cellules foliaires nous ont permis également de mettre en évidence des formations filamenteuses que nous avons cru judicieux de ranger en deux groupes : les unes, intravacuolaires nous paraissent être des trabécules issus du cytoplasme pariétal ; les autres, intracytoplasmiques, nous paraissent dériver de l'étirement des plastes en leur milieu lors des bipartitions successives. Cet étirement serait comparable à l'allongement en chaîne du plaste unique des cellules foliaires de *Selaginella* décrites par Haberlandt (1888) et Emberger (1923) ; l'étranglement qui sépare

deux sphères consécutives de ces sortes de chaînettes serait, dans le cas présent des Muscinées, développé au maximum.

En outre, l'examen du cytoplasme de quelques espèces nous a permis de décrire les éléments du chondriome ; ceux-ci, normalement conservés par les fixateurs mitochondriaux, ont parfois résisté des liquides fixateurs à pH nettement acide (C.M.F. 24, Nawaschin).

Chapitre V

PARAPHYSES ET POILS FOLIAIRES

Les paraphyses et les poils foliaires constituent chez les Mousses un excellent matériel d'étude du protoplasme. On les trouve au centre des bourgeons mêlés aux feuilles juvéniles ou aux organes sexuels. Ils sont toujours constitués d'une file unisériée de grandes cellules dont la membrane laisse voir le contenu cellulaire. Ce dernier, en général, peu chargé en chloroplastes permet une observation satisfaisante de ses constituants à la différence des feuilles où la grande abondance des plastes rend difficile l'observation vitale.

1° **Mnium punctatum.**

Poils stériles du bourgeon de l'axe.

Observation vitale (fig. 59). — Le cytoplasme forme à l'intérieur des cellules un revêtement continu d'épaisseur sensiblement égale. Le noyau, situé toujours contre la paroi fait une saillie au sein de ce revêtement intérieur. Des trabécules cytoplasmiques traversent la vacuole centrale ; les plus importants d'entre eux isolent même des portions de

cette vacuole. D'autres sont réduits à de fins filaments cytoplasmiques. C'est la présence de chloroplastes ou de granulations punctiformes sur leur trajet qui les signale à l'observation.

Les déplacements de ces filaments au sein de la vacuole traduisent la motilité propre du cytoplasme : ils se déforment, s'anastomosent parfois, et entraînent lentement les plastes qu'ils transportent. La cyclose est plus difficile à percevoir au sein de la couche cytoplasmique bordante dont les déformations sont très lentes.

En suspension dans ce cytoplasme parfaitement homogène on voit des chloroplastes ovoïdes à l'aspect finement structuré et paraissant sans aucune inclusion. A côté d'eux et en nombre considérable sont des granulations punctiformes de taille très réduite. Les unes très réfringentes sont constituées de substances lipidiques ; les autres, plus ténues, sont souvent réunies en chaînettes et représentent certainement le chondriome. Nous n'avons jamais observé de bâtonnets ni de filaments dans le cytoplasme de ces cellules.

Matériel fixé. Fixation au Nawaschin. — Cette fixation désorganise nettement le gel cytoplasmique ; elle fixe par contre convenablement les organites cellulaires. Après coloration à l'hématoxyline et régression peu importante, les plastes apparaissent avec une structure nettement granuleuse ; les *grana* qu'ils présentent sont petits, punctiformes, plus chromophiles que le *stroma*. Si la régression est plus avancée, toute structure granuleuse disparaît. Dans chaque chloroplaste, au centre du *stroma* coloré, apparaît l'enclave d'amidon généralement unique et de même forme que le plaste générateur.

On constate de plus, au sein de ce cytoplasme fixé au Nawaschin, l'existence d'organites très colorables et paraissant se rattacher, par leur forme, au chondriome. Il ne peut s'agir là en effet de précipités vacuolaires. Leur présence après cette fixation démontre leur résistance à l'acide

acétique ainsi que nous l'avons parfois constaté pour le chondriome de la feuille.

Fixation au Regaud IV. — Cette fixation a l'avantage de ne modifier en rien l'architecture cellulaire ; les trabécules cytoplasmiques sont en effet conservés, et sur leur trajet, les plastes apparaissent homogènes.

2° **Paraphyses de Funaria hygrometrica** (Fig. 58).

L'étude des paraphyses de *Funaria* est également des plus intéressante, car elles offrent un matériel d'investigation remarquable. On connaît en effet leur forme caractéristique en massue : le pédoncule de ces poils est fait de cellules allongées et placées bout à bout sur une seule file, le diamètre de ces cellules croissant de la base jusqu'au sommet. La masse terminale de la paraphyse est constituée par 2 ou 3 énormes cellules, vaguement sphériques, au contenu très transparent.

Quoique de forme différente, ces cellules terminales de la paraphyse ont une constitution rappelant étroitement celle de la feuille de *Funaria.* Les plastes, peu nombreux, sont ovoïdes et chlorophylliens. Ils présentent des figures de bipartition caractéristiques, ainsi qu'une structure granuliforme. Mais ces cellules présentent surtout un intérêt par l'existence de formations filamenteuses analogues à celles de la feuille ; on a là un matériel de choix pour étudier les déformations de ces filaments *in vivo* à l'intérieur du cytoplasme. Dans leur mouvement, ils entraînent parfois avec eux des granulations qui jalonnent leur parcours.

3° **Poils foliaires de polytrichum formosum.**

Nous avons voulu reprendre les observations effectuées par M. P. Dangeard sur ce même matériel (1925). Nous avons pu constater comme lui que la forme des plastes peut changer considérablement sans que pour cela leur nature soit modifiée.

En effet, dans certaines cellules situées au sommet ou à la base de ces poils, on peut constater la présence de plastes normaux, sphériques, comme dans les feuilles de Polytrichum ou bien légèrement oblongs, certains présentant un étranglement (fig. 60 et 61). Très peu chlorophylliens, ils n'en présentent pas moins une structure granuleuse accusée. L'iode permet de révéler l'amidon qui occupe en général la majeure partie du plaste. L'acide osmique met en évidence au sein du cytoplasme des granulations lipidiques de taille voisine de celle des mitochondries punctiformes.

D'autres cellules, au contraire, de situation quelconque par rapport aux précédentes, présentent un plastidome tout différent. On a affaire là à des filaments ou « mitoplastes » qui ne sont autres que des plastes étirés (fig. 63). Leur épaisseur est rigoureusement constante. Cette épaisseur, ainsi que la longueur sont sensiblement égales chez différents organites analogues. Comme l'a souligné P. Dangeard, il ne peut être question de voir là les représentants hypertrophiés du chondriome. On trouve, en effet, dans des cellules voisines, des formes intermédiaires entre les plastes ovoïdes et ces mitoplastes (formes en navette plus ou moins allongée). Les plus gros d'entre eux laissent voir d'ailleurs à leur surface quelques *grana* qui boursouflent leur contour (fig. 62). D'autres enfin apparaissent nettement colorés en vert. Ces diverses observations nous permettent de placer incontestablement ces mitoplastes parmi les éléments du plastidome.

Chapitre VI

L'ARCHÉGONE

A) HISTORIQUE

L'archégone des Muscinées n'a fait l'objet jusqu'à ce jour, que d'études peu importantes. Outre les travaux des

auteurs anciens SCHIMPER (1848-1857), HOFMEISTER (1851), HY (1884), GAYET (1897), il faut seulement noter les résultats de CAMPBELL (1905), J. et V. DOCTERS VAN LEEUWEN-REIJNWAAN (1907), SAPEHIN (1913), MOTTE (1928). Ces botanistes se sont attachés surtout à décrire le contenu de l'oosphère avant ou pendant sa maturation. Peu d'entre eux ont suivi son évolution, ce qui explique la diversité de leurs opinions notamment en ce qui concerne les plastes recélés par la gamète ♀. Pour CAMPBELL, les jeunes archégones sont entièrement incolores, alors qu'au contraire pour SCHIMPER et SAPEHIN ils contiennent des plastes nettement chlorophylliens.

B) ÉTUDE PERSONNELLE

Généralités. — L'archégone des Muscinées a pour origine une cellule du bourgeon, qui, au cours de la végétation, va se partager en quatre autres cellules par trois cloisons. Mais alors que la cellule apicale de la tige donne un massif cellulaire compact, les initiales de l'archégone se détachent du bourgeon et constituent une papille (fig. 64). On peut désormais, à partir de cette papille, suivre l'évolution du jeune archégone. La cellule centrale va grossir, se multiplier pour donner une file axiale de cellules. L'une d'elles deviendra l'oosphère surmontée des cellules du canal. Les trois cellules enveloppantes vont-elles aussi grandir et se multiplier de façon à entourer l'oosphère et les cellules du canal comme dans un sac. L'ensemble constitue l'archégone dont la base se renfle au niveau de l'oosphère pendant toute l'évolution et jusqu'à maturité du gamète femelle.

1° Barbula intermedia.

Avant maturité de la cellule. — Nous avons pu observer dans cette espèce tous les stades que nous venons de décrire et y étudier le matériel cytoplasmique. La cellule initiale

de l'archégone possède des plastes chlorophylliens, ainsi que des mitochondries en filaments, en bâtonnets ou en granulations sphériques (fig. 64) ; c'est également sous ce dernier aspect qu'apparaît le vacuome dont l'importance sera prépondérante dans les cellules périphériques. Ces mêmes éléments se retrouvent dans toutes les cellules de l'organe à des stades plus avancés : enveloppe, cellules du canal et oosphère (fig. 65 et 66). Cette dernière se distingue cependant de bonne heure par son volume plus important. Son noyau s'accroît considérablement ainsi que son unique nucléole ; le reste de la cellule est entièrement occupé (tant que la taille définitive de l'archégone n'est pas atteinte) par un cytoplasme dense au sein duquel la coloration vitale au rouge neutre ne nous a pas permis de révéler de vacuoles. Les cellules périphériques prenant le colorant vital empêchent en effet, de distinguer l'oosphère. Des plastes chlorophylliens y sont également très bien caractérisés ; la difficulté d'observation avec coloration au Lugol ne nous a pas permis de juger de la présence ou de l'absence d'amidon à l'intérieur de ces plastes (ainsi d'ailleurs qu'après fixation) (fig. 67). Lorsque la cellule-mère de l'oosphère a ainsi atteint une certaine taille, on assiste à sa division transversale ; il en résulte une cellule supérieure ou « cellule ventre du canal », et une inférieure ou oosphère proprement dite, plus volumineuse (en général) que la précédente.

Maturité de la cellule ♀. — L'ensemble ne présente donc, jusqu'à maintenant, rien d'exceptionnel quant à la croissance de ce tissu qui ne diffère en rien d'un tissu chlorophyllien normal. Mais à partir du moment où la croissance de l'archégone est terminée et où se déclenche la maturité de l'oosphère, on est témoin de phénomènes nouveaux. C'est tout d'abord la résorption de l'oosphère qui est devenue, nous l'avons vu, la cellule la plus importante de l'archégone (fig. 68). En effet, le cytoplasme de cette cellule se contracte, devient granuleux et se sépare de la membrane cel-

luloso-pectique qui l'enveloppe ; à la fin de cette évolution, l'oosphère est une grosse masse sphérique au contour régulier, située dans la partie la plus profonde du renflement de l'archégone. Elle laisse voir des plastes régressés, de taille inférieure à la normale, mais demeurant chlorophylliens et ne pouvant en aucun cas être confondus avec les mitochondries. L'emploi de l'iode ne nous a pas permis de révéler d'amidon à l'intérieur de cette oosphère. L'acide osmique a été employé comme fixateur afin de révéler les lipides à l'intérieur de cette oosphère mûre. Les résultats insuffisants que nous avons obtenus, ne nous permettent pas d'être affirmatif sur ce point ; mais il apparaît cependant que la teneur de l'oosphère en lipides croît avec la maturité.

L'oosphère est surmontée de la cellule ventre du canal qui garde une forme tronconique (fig. 68 et 69). Ces deux cellules sont entourées de liquide qui provient de la désorganisation, nous allons le voir, des cellules du canal.

Ce qu'il y a de plus frappant, en effet, dans l'évolution de cet archégone, c'est l'onde de désorganisation qui se manifeste à partir de l'oosphère et seulement au moment de sa maturation : il y a déclenchement, à ce moment, d'une lyse des cellules du canal avec gélification de leurs membranes. Cette désorganisation se transmet de proche en proche à partir de la cellule ventre du canal vers l'extrémité du col de ce canal (fig. 71). Les dernières cellules qui le coiffent sont elles-mêmes atteintes de cette dégénérescence ; elles ne tardent pas d'ailleurs, à devenir très turgescentes et à s'écarter les unes des autres pour livrer passage au mucus contenu dans le col de l'archégone (fig. 72). C'est l'ouverture de l'archégone qui permettra alors le passage des anthérozoïdes pour assurer la fécondation. La confirmation de cette hypothèse nous a été offerte car nous avons rencontré au cours de cette étude un stade de fécondation sur lequel nous avons vu l'accolement d'un anthérozoïde à l'oosphère (fig. 74).

2° **Polytrichum formosum** (fig. 75).

Nous n'avons poursuivi sur cette espèce particulièrement favorable que des observations vitales. Nous avons toujours pu voir à l'intérieur de l'oosphère un noyau volumineux et assez translucide, entouré de nombreux plastes chlorophylliens très caractéristiques. Ils présentent en général un aspect lenticulaire à contour oblong ou circulaire. A la surface de certains d'entre eux, on peut même discerner des *grana* ainsi que des inclusions incolores pouvant être certainement attribuées à de l'amidon.

C) CONCLUSION

Ainsi donc, contrairement aux affirmations de certains auteurs nous avons toujours vu persister des chloroplastes dans la cellule-mère de l'oosphère, puis dans cette oosphère elle-même aux différents stades de son évolution. Ces constatations corroborent celles déjà anciennes de Sapehin. Les plastes du gamète ♀ ont certes une taille réduite lors de sa maturité complète ou même au commencement de sa dégénérescence s'il n'est pas fécondé. Mais ils ne peuvent en aucun cas être confondus sur le vivant avec des chondriosomes déformés ou dégénérés puisqu'ils conservent leur pigment. Sur les préparations fixées, leur taille et leur forme empêchent également de les confondre avec ces éléments. A côté des plastes, il nous faut mentionner la présence de globules lipidiques dans l'oosphère mûre au niveau desquels l'acide osmique est réduit.

Chapitre VII

ANTHÉRIDIE

L'étude que nous avons entreprise au sujet de *Funaria hygrometrica* n'a pas la prétention d'être complète ; les don-

nées que nous rapportons sont fragmentaires et, ce faisant, ne donnent pas une idée précise de l'évolution cytologique de cet organe. C'est qu'en effet, comme tous les auteurs qui se sont occupés de la question l'ont signalé, il est difficile de suivre la chronologie de la spermatogenèse, étant donnée la complexité des figures qu'offre cette évolution. Aussi, nous nous sommes contenté d'étudier quelques-uns des différents stades que nous avons pu observer. Nous n'avons pu, d'autre part, étendre ces observations à différentes espèces, et c'est seulement à *Funaria* que nous nous sommes adressé. Cette espèce constitue en effet un matériel particulièrement abondant et déjà étudié par de nombreux auteurs; aussi nous avons pensé trouver des documents importants sur ce sujet.

Les anthéridies sont groupées à l'extrémité des tiges des pieds mâles. Elles ne se développent ni ne mûrissent pas toutes en même temps, aussi est-il possible dans une même préparation d'en examiner à des stades différents. Contrairement à l'opinion de certains auteurs, nous pensons que l'observation vitale des anthéridies est toujours délicate et renseigne très mal sur la constitution cytologique de ces organes. L'anthéridie est en effet un organe massif, peu transparent et dont l'enveloppe est chlorophyllienne pendant la majorité de son développement. Aussi, ce sont des préparations fixées au Regaud et colorées à l'hématoxyline que nous avons observées.

Le stade le plus jeune d'anthéridie observée présente des cellules dont la différenciation est déjà commencée (fig. 76). On observe en effet une assise de cellules enveloppantes et un tissu central dont les éléments sont différents: les noyaux sont plus volumineux dans les cellules centrales qui donneront les spermatides ; ils paraissent sans structure. Les plastes, au contraire, sont plus volumineux dans les cellules de la périphérie. Ils recèlent parfois plusieurs inclusions d'amidon et ne paraissent pas différents de ceux des autres organes du végétal. Ceux des cellules centrales sont au con-

traire plus allongés, lenticulaires ou ovoïdes avec inclusions incolores d'amidon ; d'autres sont plus ou moins arqués et paraissent non amylifères. Mais en aucun cas, les éléments de ce plastidome ne peuvent être confondus, comme certains l'ont soutenu, avec ceux du chondriome. Ceux-ci sont d'ailleurs très variés : bâtonnets, filaments, granulations d'épaisseur toujours très réduite. On peut donc suivre ici, dans l'anthéridie comme dans les autres organes, les deux lignées des éléments cytoplasmiques. Les vacuoles des futures spermatides accroissent leur volume ; cet accroissement continuera d'ailleurs au cours du développement et de la maturation de l'anthéridie (fig. 78).

Il nous a été possible d'observer sur de nombreuses préparations un stade plus avancé qu'on peut appeler pour la commodité de l'exposé « stade de tassement des éléments cytoplasmiques ». Les cellules centrales de l'anthéridie dont nous avons décrit la structure plus haut, se sont en effet divisées plusieurs fois. Chacune d'elles semble donner naissance à quatre cellules-mères de spermatides dont la membrane reste invisible sur nos préparations (fig. 78). Les noyaux présentent toujours ici un aspect homogène, ainsi d'ailleurs que le cytoplasme. Les vacuoles s'agrandissent, fusionnent et contribuent ainsi à grouper sous un faible volume tous les éléments du protoplasme.

Mais le fait le plus caractéristique de ce stade paraît être le tassement du plastidome et du chondriome vers un des pôles de la cellule, tout contre le noyau (fig. 78 et 79). La taille de ces éléments est d'ailleurs des plus réduite ; les plastes de forme lenticulaire deviennent filamenteux avec réduction de plus en plus marquée de la vésicule amylifère ; des bâtonnets et de minuscules granulations représentent le chondriome. Tous ces éléments s'emmêlent et rapidement, il n'est plus possible de les distinguer. Au bout de peu de temps, tout le matériel cytoplasmique est groupé en un « corps unique » de forme irrégulière et dont le contenu paraît homogène (fig. 80). Ce « corps unique » est toujours

accompagné sur nos préparations d'une vésicule incolore, pouvant être une vacuole amylifère comme l'ont affirmé certains cytologistes ; nous n'avons cependant, vu la difficulté technique, jamais pu mettre l'amidon en évidence dans cette vésicule.

Dans la plupart des cellules-mères observées à ce stade, on ne trouve plus trace de noyau ; au cours du tassement des éléments cytoplasmiques, il devient de moins en moins colorable, si bien qu'à la fin du processus on le perd tout à fait de vue (fig. 80 et 81). C'est à partir du moment où le « corps unique » atteint une taille minimum que le noyau reparaît sous forme d'un granule très chromophile (fig. 82) ; ce granule ne tarde pas à s'allonger en un croissant qui s'applique à la périphérie de la spermatide. Puis une extrémité de ce noyau se détache du cytoplasme ou s'en isole par formation d'une zone de plus en plus vacuolisée (fig. 83 et 84).

Désormais le noyau filamenteux va sans cesse s'allonger ; le « corps unique » pourra être suivi quelque temps, car on le voit très souvent s'accoler à un endroit quelconque du noyau et faire hernie sur son bord interne (fig. 85 et 86). Au centre de cette hernie il nous a été donné de voir parfois une inclusion incolore, de plus petite taille, mais analogue à la vésicule amylifère du « corps unique ». Pendant le même temps, le cytoplasme se vacuolise de plus en plus et se résorbe entièrement. Le noyau s'enroule alors en une spirale lâche ; une fois disparues les dernières traces de cytoplasme, l'anthérozoïde a atteint son aspect définitif : mince bandelette enroulée sur elle-même ayant à une extrémité deux cils dont l'époque d'apparition reste imprécise pour nous (fig. 85 et 86).

CONCLUSION

La difficulté du sujet nous empêche de donner, ainsi que nous l'avons dit au début de ce chapitre, une étude plus

complète sur l'anthéridie. C'est pour une raison analogue que nous n'avons pas résumé les principaux travaux sur la question avant d'exposer nos propres observations. Ils reflètent d'ailleurs sur ce sujet bon nombre de conceptions contradictoires. Aussi, nous nous contenterons maintenant de comparer les résultats que nous avons obtenus sur *Funaria hygrometrica* avec quelques-uns des faits acquis depuis une quarantaine d'années.

Il faut d'abord remarquer, au cours de l'évolution de l'anthéridie, la régression des chloroplastes en filaments de moins en moins chargés d'amidon. L'opinion de Sapehin qui croyait en la permanence d'un chloroplaste au sein de la spermatide, ne peut plus être soutenue aujourd'hui. Pendant la régression du plastidome nous avons noté la persistance du chondriome, et durant la phase de « tassement des éléments cytoplasmiques », il nous a toujours été possible de distinguer les deux catégories d'éléments. Ceux-ci contribuent à former un « corps unique ». Ce nouvel organite est assimilable à la « limosphère » définie par Wilson chez les Bryophytes ou au « Nebenkern » défini par Butschli dans le spermatozoïde des insectes. Motte le nomme « corps mitochondrial » et voit en lui un argument tendant à prouver l'identité d'origine des plastes et des mitochondries dont l'évolution régressive aboutirait à la formation de ce corps homogène. Nous ne pouvons cependant nous rallier à cette conception, d'autant plus que la vésicule annexée à ce corps contiendrait de l'amidon. Ce « corps unique » persiste chez l'anthérozoïde mûr, accolé au noyau, mais nous ne pouvons préciser ses rapports avec ce dernier. Nous aurions aimé faire là une coloration différentielle, nous permettant de distinguer ces deux éléments, mais nous avons toujours échoué, en particulier dans la réaction nucléale de Feulgen (qui semble ici toujours négative et dont la réussite nous aurait permis la double coloration de Yu-Chih-Chen).

Nous avons noté, comme de nombreux cytologistes l'ont

fait, la non-colorabilité du noyau pendant une certaine phase de la spermatogenèse. Nous ne tenterons pas d'expliquer ce fait pour l'instant, nous promettant de revenir sur son étude dans l'avenir.

Nous avons signalé la présence d'un vacuome dans les cellules spermatogènes. D'après Motte, un corps érythrophile irrégulier en dériverait et s'imprégnerait par les méthodes argentiques. On aurait là un véritable appareil réticulaire interne analogue à l'acroblaste ou à l'idiosome des spermatozoïdes animaux. Mais son existence serait transitoire : il ne persisterait pas, aussi l'analogie de structure ne peut-elle être très poussée. Dans ce travail nous ne nous sommes pas attaché à l'étude de cet appareil particulier.

Nous terminerons enfin en notant, conformément aux résultats de Motte, l'absence de centrosomes dans nos préparations (kinétosomes d'Allen). Nous n'avons, il est vrai, jamais examiné de mitoses dans les cellules spermatogènes : peut-être est-ce là la raison de cette remarque. Ici encore, une étude approfondie de la question est nécessaire.

Chapitre VIII

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Il nous reste maintenant à tirer quelques conclusions générales des faits que nous avons observés et dont la synthèse a été résumée à la fin de chacun des chapitres de notre travail.

Il ressort de nos observations sur le gamétophyte des Mousses que toute cellule de ce gamétophyte renferme des plastes en même temps que des chondriosomes. Ces plastes, toujours chlorophylliens dans l'appareil végétatif peuvent être observés vitalement dans chacun de ses organes. Des

plastes et des chondriosomes distincts existent aussi dans la cellule apicale de la tige de toutes les espèces étudiées, notamment dans celles où l'on pouvait croire, d'après certains travaux antérieurs, qu'il y aurait un « chondriome homogène ».

A la suite de nombreux auteurs qui se sont occupés de la structure des plastes, nous avons noté la présence de *grana* chez les chloroplastes de toutes les espèces étudiées. Nous pensons que ces *grana* se trouvent à l'intérieur du plaste et pas seulement à sa surface comme certains cytologistes l'ont soutenu. Cette opinion semble, de plus, être confirmée par les résultats obtenus après vésiculisation de ces plastes. La vésiculisation nous a permis également de mettre en évidence une fine membrane autour des chloroplastes des Mousses, membrane normalement invisible à cause de sa minceur ; ces résultats sont comparables à ceux obtenus par P. DANGEARD chez diverses Plantes supérieures.

Nous avons distingué à l'intérieur de la cellule des Mousses des formations filamenteuses entrevues autrefois par divers auteurs et dont nous avons tenté de préciser la nature : les unes sont constituées par des trabécules de cytoplasme traversant le système vacuolaire ; ces trabécules sont parfois jalonnés de chloroplastes (dans les paraphyses notamment) ou en sont dépourvus le plus souvent (dans la feuille en particulier). D'autres formations filamenteuses, en relation avec les plastes ou non, sont parfois disposées en réseau. Nous pensons qu'elles résultent d'un étirement de la membrane plastidaire après bipartition des chloroplastes.

A la suite de P. DANGEARD, nous plaçons les mitoplastes des poils foliaires de *Polytrichum* parmi les éléments du plastidome : chez certains d'entre eux, nous avons pu mettre en évidence une structure granulaire.

Nous avons pu suivre vitalement les divers stades évolutifs de l'archégone de *Barbula intermedia* et noter la présence de chloroplastes dans l'oosphère durant la majorité

de son développement. Nous avons suivi à partir de cette oosphère la gélification des cellules qui la surmontent, aboutissant à la formation du canal de fécondation.

Notre attention s'est également portée sur l'évolution de l'anthéridie de *Funaria hygrometrica*. Conformément aux résultats de plusieurs auteurs, nous avons distingué dans la spermatide un « corps unique » ayant son origine dans le tassement des éléments cytoplasmiques. Ce corps est assimilable au « Nebenkern » ou « corps mitochondrial » des auteurs. Chez des spermatozoïdes mûrs on peut constater la persistance de ce corps. Enfin, pendant une certaine phase de la spermatogenèse, nous avons noté une non-colorabilité du noyau par l'hématoxyline ferrique ainsi que par la réaction nucléale de Feulgen.

Nous avons très souvent pratiqué la coloration vitale des vacuoles. Nous pensons que celles-ci persistent pendant tout le cycle végétatif des Bryophytes et notamment dans la spore où leur taille est des plus réduite. Ce sont elles qui se transmettent dans le filament protonémique à la germination, et de là, dans toutes les cellules du gamétophyte. Ce résultat apparaît conforme à l'idée du vacuome considéré comme appareil constant de la cellule végétale.

———

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ALLEN. — The spermatogenesis of *Polytrichum juniperinum* (*Ann. of Bot.*, 1917, vol. 31, p. 269).

— Cell structure, growth and division in the antheridia of *Polytrichum juniperinum* Willd. (*Arch. f. Zellforsch.*, 1912, vol. 8, p. 121).

ALVARADO. — Die Entstehung der Plastiden aus Chondriosomen in den Paraphysen von *Mnium cuspidatum* (*Ber. d. d. Bot. Ges.*, 1923, vol. 41, p. 85).

BEAUVERIE. — Etude de cytologie expérimentale : action de l'eau distillée sur les chromoplastes de Renonculacées (*Rev. gén. de Bot.*, 1937, t. 49 p. 469).

— La structure granulaire des grains de chlorophylle (*Rev. de Cyt. et Cytoph. vég.*, 1938, vol. 3, p. 80).

CAMPBELL. — The structure and development of Mosses and Ferns (*Archegoniatae*), 2e éd. N. Y., 1905).

CHALAUD. — Le cycle évolutif de *Fossombronia pusilla* (Thèse de doctorat, Paris, 1929).

CHODAT. — Principes de Botanique (3e éd. 1920).

COMBES. — La vie de la cellule végétale (A. Colin, Paris, 1927).

DANGEARD (P. A.). — Sur la reproduction sexuelle chez le *Marchantia polymorpha* dans ses rapports avec la structure cellulaire (*C. R. Ac. Sc.*, 1924, t. 178, p. 267).

DANGEARD (P.). — Recherches de Biologie cellulaire (Paris, 1923).

— Plastes et cytosomes chez le *Fontinalis antipyretica* (*B. S. B. F.*, 1925, t. 72, p. 5).

— Observations cytologiques sur les poils foliaires à forme de paraphyses des Polytrics (*Bull. S. B. F.*, 1925, t. 72, p. 125).

— Le rôle des constituants cellulaires dans la survie, en particulier du chondriome (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, t. 213, p. 697).

— Sur quelques modifications pathologiques des plastes et sur la mise en évidence d'une membrane plastidaire (*Ibid.*, 1941, t. 213, p. 884).

— Recherches sur les modifications du protoplasme dans les conditions permettant la survie de la cellule (*Le Botaniste*, 1942, t. 31, p. 189).

— Observations sur la structure des chloroplastes (*C. R. Ac. Sc.*, 1944, t. 219, p. 626).

— Cytologie végétale et cytologie générale (*Encyclopédie biologique*, XXVI, Lechevalier, Paris, 1947).

DANGEARD (P.) et EYMÉ. — Les plastes et les mitochondries dans la cellule apicale de quelques Muscinées (*C. R. Ac. Sc.*, 1946, t. 222, p. 335).

DANGEARD (P.) et EYMÉ. — Sur les formations filamenteuses de la cellule des Mousses (*C. R. Ac. Sc.*, 1947, t. 224, p. 1399).

DAVY de VIRVILLE. — L'action du milieu sur les Mousses (Thèse de doctorat, Paris, 1927).

DOUTRELIGNE. — Chlorophylle et chloroplastes (*Rev. des questions sc.*, 1936, t. 28, p. 399).

— Note sur la structure des chloroplastes (*Kon. Adak. Wetensch. Amsterdam Proc.*, 1935, t. 38, p. 886).

EMBERGER. — Recherches sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Ptéridophytes (*Arch. de Morph. gén. et ebp.*, nº 1, Paris, 1921).

— Nouvelle contribution à l'ètude des Sélaginelles (*C. R. Soc. Biol.*, 1923).

— Nouvelles recherches sur le chondrione de la cellule végétale (*Rev. gén. Bot.*, 1927, t. 34, p. 341 et 420).

EYMÉ. — Observations sur l'archégone des Muscinées (*Bull. Soc. Linn. Bordeaux*, janv. 1946).

EYMÉ (V. DANGEARD P. et EYMÉ).

GAVAUDAN. — Recherches sur la cellule des Hépatiques (*Le Botaniste*, 1930, t. 22, 105).

GAYET. — Recherches sur le développement de l'archégone chez les Muscinées (Thèse de doctorat, Paris, 1897).

GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL. — Traité de Cytologie végétale (Paris, 1933).

HEITZ. — Gerichtete Chlorophyllscheiben als strukturelle Assimilationseinheiten der Chloroplasten (*Bericht. d. d. Bot. Ges.*, 1936, t. 54, p. 362).

— Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten (*Plants*, 1936, t. 26, p. 134).

HY. — Recherches sur l'archégone et le développement du fruit des Muscinées (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1884, t. 18, p. 105).

LANGERON. — Précis de Microscopie (6e éd., Paris, 1942).

LUBIMENKO. — Recherches sur les pigments des plastes et la photosynthèse (*Rev. gén. Bot.*, 1926, t. 38, p. 307).

MALVESIN-FABRE. — Contribution à la caryologie des Aracées (Thèse de doctorat, Bordeaux, 1943).

MEYER. — Ueber Chlorophyllkörner, Stärkebildner und Farbkörper (*Bot. Centralbl.*, 1882, Bd 12, p. 314).

MIRIMANOFF. — Quelques propriétés des chloroplastes en relation avec leur structure granulaire (*Bull. Soc. Bot.* Genève, 1937-1938, t. XXX, p. 236).

MORREN. — Recherches sur le tissu cellulaire des Mousses et en particulier sur celui des Hypnum (*Bull. Ac. roy. Sc. et B. L.*, Bruxelles, 1841, t. 8, p. 68).

MOTTE. — Sur la cytologie des Mousses (*C. R. Ac. Sc.*, 1925, t. 181, p. 618).

— Sur l'évolution cytologique de l'anthéridie des Mousses (*C. R. Ac. Sc.*, 1925, t. 181, p. 803).

MOTTE. — Contribution à la connaissance cytologique des Muscinées (Thèse de doctorat, Paris, 1928).

MOTTIER. — Chondriosome and the Primordia of chloroplasts and leukoplasts (*Ann. of Bot.*, 1918, t. 32, p. 91).

POTTIER. — Recherches sur le développement de la feuille des Mousses (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1921, sér. X, t. 3).

RABENHORST. — Kryptogamen-Flora : Die Laubmoose Europas (Leipzig, 1927).

SAPEHIN. — Ueber das Verhalten der Plastiden im sporogenen Gewebe (*Ber. d. d. Bot. Ges.*, 1911, Bd 29, p. 491).

SCHIMPER (W. P.). — Recherches anatomiques et morphologiques sur les Mousses (Thèse de doctorat, Strasbourg, 1848).

— Mémoire pour servir à l'histoire naturelle des Sphaignes (Paris, 1857).

VERDOORN. — Manual of Bryology (The Hague, 1932).

WEIER (E.). — The structure of the chloroplast (*The bot. rev.*, t. 4, p. 497, 1938).

WILSON (M.). — Spermatogenesis in the Bryophyta (*Ann. of. Bot.*, 1911, vol. 25, p. 299).

PLANCHES

PLANCHE IX

Fig. 1 et 2. — Spores de *Funaria hygrometrica* sans coloration.

Fig. 3 et 4. — Spores de *Funaria hygrometrica* colorées vitalement au Rouge neutre (Remarquer l'augmentation de taille par rapport aux 2 premières).

Fig. 5, 6 et 7. — Spores de *Pogonatum aloides* à différents stades de maturité.

Fig. 8. — Germination d'une spore de *Funaria.*

Fig. 9. — La même après coloration vitale.

Fig. 10. — Protonéma de *Funaria* observé 15 jours après la mise en culture.

Fig. 11. — Protonéma adulte de *Pogonatum aloides.*

Fig. 12. — Protonéma adulte de *Pogonatum aloides* montrant la naissance d'une ramification.

Fig. 13. — Cellule distale d'un filament protonémique de *Pogonatum aloides.*

Fig. 14. — Début de germination d'une spore de *Grimmia pulvinata.*

Fig. 15. — Plastes de protonéma avec inclusions d'amidon coloré au Lugol.

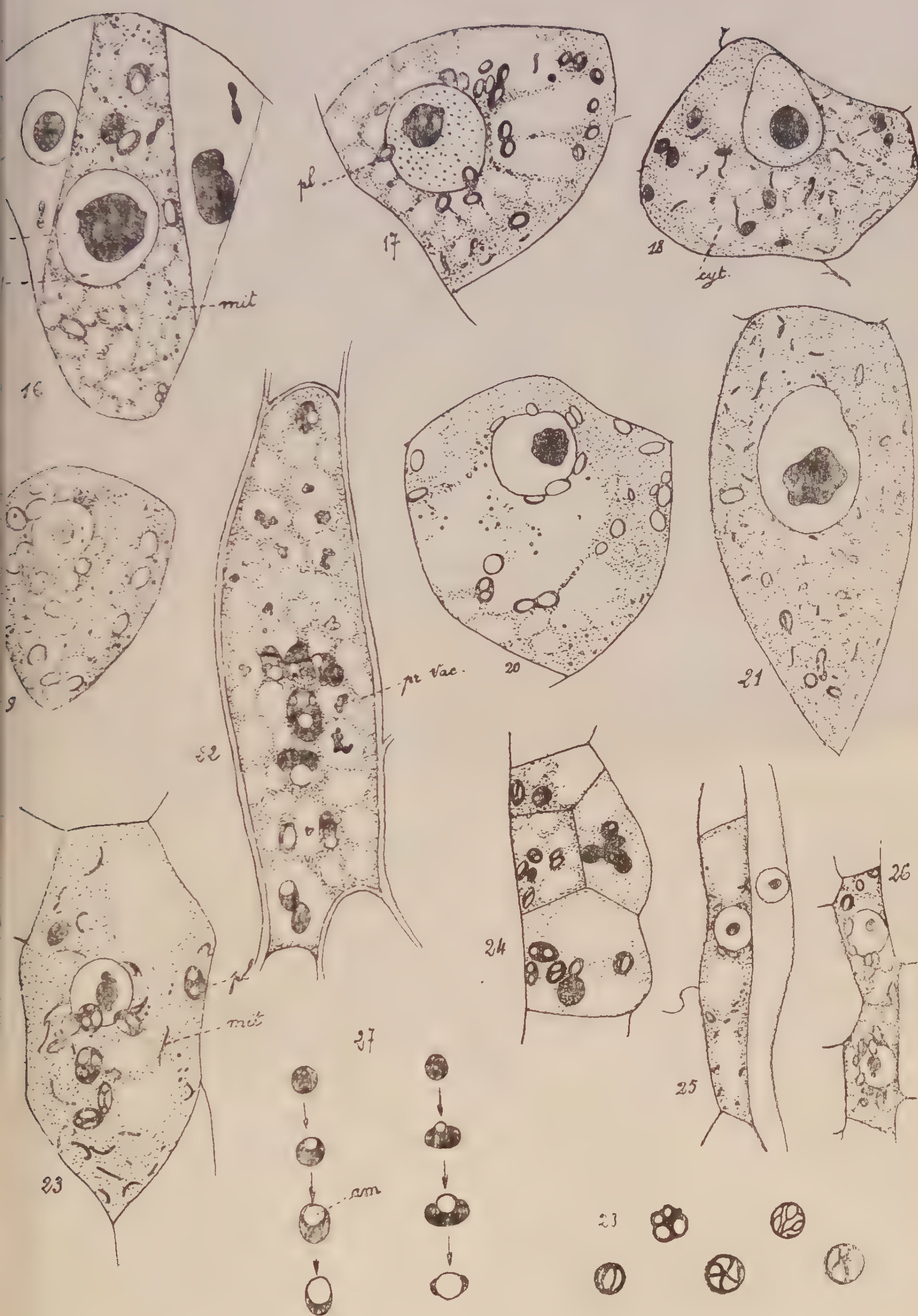
Légende : lip. = gouttelettes lipidiques.
pl. = plastes.
ex. = exospore.
vac. = vacuoles.
am. = amidon.


lip.
ex.
lip.
n
1
2
5
6
7
lip
Vac.
3
4
15
am.
pl.
Vac.
9
14
10
am
13
11
lip
12
pl

PLANCHE X

FIG. 16. — Cellule apicale de *Scleropodium purum* (fix. REGAUD).
FIG. 17. — Cellule apicale de *Grimmia pulvinata* (fix. REGAUD).
FIG. 18. — Cellule apicale de *Atrichum undulatum* (fix. REGAUD).
FIG. 19. — Cellule apicale de *Dicranum scoparium* (fix. REGAUD).
FIG. 20. — Cellule apicale de *Polytrichum formosum* (fix. REGAUD).
FIG. 21. — Cellule apicale de *Mnium rostratum* (fix. REGAUD).
FIG. 22. — Cellule de l'axe de *Sphagnum cymbifolium* (fix. REGAUD).
FIG. 23. — Cellule de l'axe de *Scleropodium purum* (fix. REGAUD).
FIG. 24. — Cellules périphériques de l'axe de *Scleropodium purum* (fix. REGAUD).
FIG. 25. — Cellules centrales du même niveau ou « hydroïdes ».
FIG. 26. — Cellules de la zone de croissance.
FIG. 27. — Evolution des plastes selon deux procédés (tige de *Sphagnum*).
FIG. 28. — Divers types de plastes de l'axe d'*Atrichum undulatum.*

Légende : N = noyau.
n = nucléole.
mit = mitochondrie.
cyt = cytoplasme.
pr. vac. = précipités vacuolaires.



13

PLANCHE XI

Fig. 29. — Feuille de *Mnium punctatum* (Observ. vit.).

Fig. 30. — Stades successifs de la vésiculisation des plastes de *Mnium punctatum*.

Fig. 31. — *Mnium punctatum* (fix. Regaud).
(*a*) et (*b*) : grains apparents ;
(*c*) et (*d*) : enclaves d'amidon incolores.

Fig. 32. — *Scleropodium purum* (fix. Regaud) cellule initiale d'une feuille.

Fig. 33. — *Mnium rostratum* : cellule de feuille (Observ. vit.).

Fig. 34. — *Mnium rostratum* : cellule de feuille présentant des formations filamenteuses (Observ. vit.).

Fig. 35. — Cellules adultes de *Scleropodium purum* (fix. Regaud).

Fig. 36. — Formations filamenteuses rattachées à des plastes dans la feuille de *Mnium rostratum*.

Fig. 37. — Chloroplastes de *Mnium rostratum* observés *in vivo*.

Légende : gr. = grana.
m. pl. = membrane plastidaire.
fil. = formation filamenteuse.

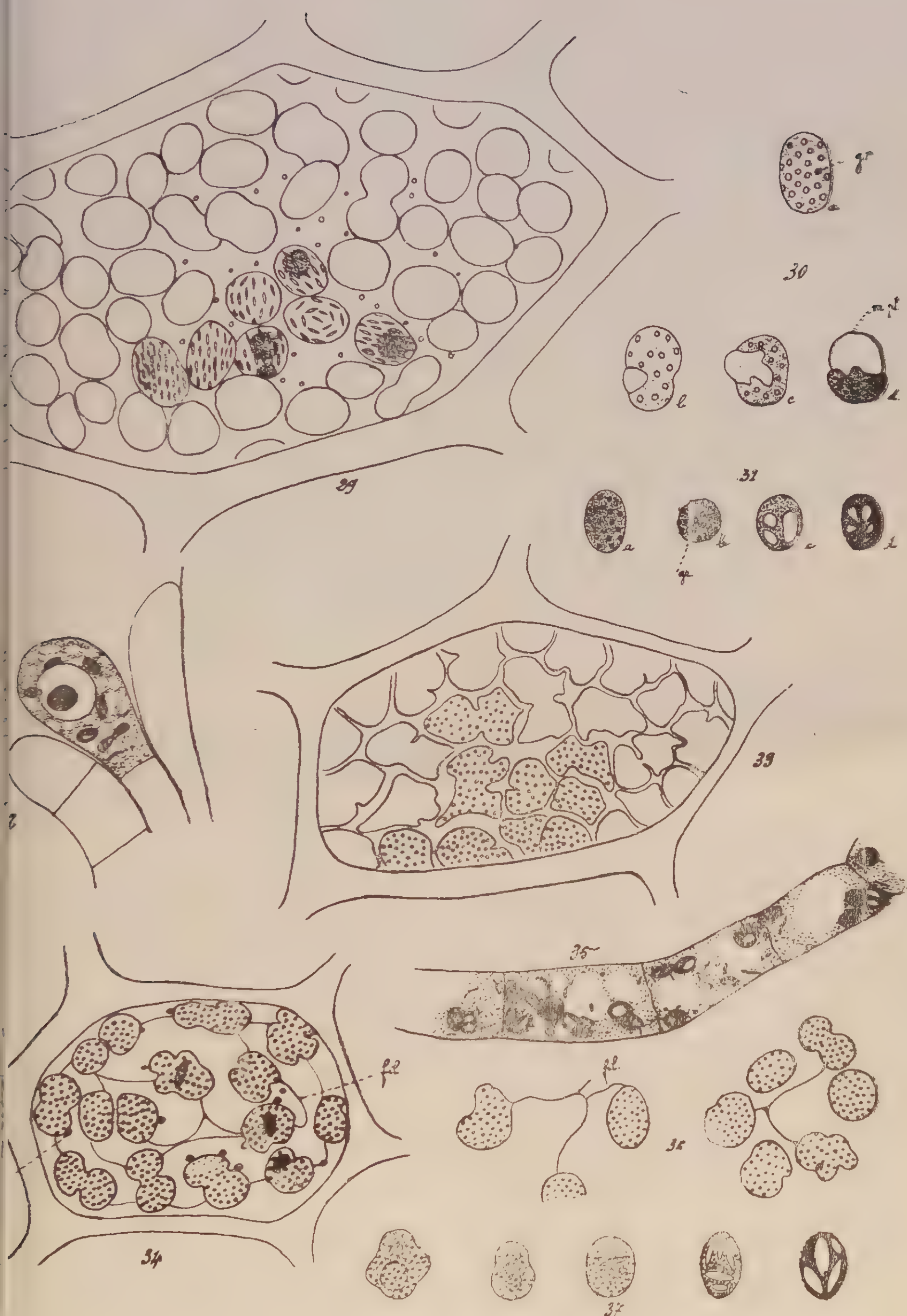

gr
30
b
c
d
29
31
a
b
c
d
33
35
fl
fl
36
34
37

PLANCHE XII

FIG. 38. — *Mnium rostratum* (fix. BOUIN-HOLLANDE), cellule de feuille.

FIG. 39. — Observation vitale d'une feuille de *Mnium rostratum* montrant les déformations et les déplacements des trabécules cytoplasmiques.

FIG. 40. — *Atrichum undulatum*, jeune cellule foliaire avec formations filamenteuses en relation avec les plastes.

FIG. 41. — *Funaria hygrometrica*, observation vitale de cellule foliaire.

FIG. 42 et 43. — *Funaria hygrometrica* : plastes et formations filamenteuses *in vivo*.

FIG. 44. — Cellule d'une feuille jeune du bourgeon de *Funaria* (fix. REGAUD).

FIG. 45 et 46. — *Hookeria lucens* portion de cytoplasme pariétal.

FIG. 47. — Cellule adulte d'*Atrichum undulatum*.

Légende : trab. cyt. = trabécule cytoplasmique.



39
a
b
c
N
trab. cyt.
pl
38
mit
41
N
40
43
42
44
45
gr
fl
46
lip
am.
47

PLANCHE XIII

Fig. 48. — Cellule foliaire de *Fontinalis* (vue superficielle).
Fig. 49. — Cellule foliaire de *Fontinalis* (vue profonde).
Fig. 50. — Cellule foliaire de *Fontinalis* colorée vitalement au Rouge neutre.
Fig. 51. — Cellule de *Mnium undulatum* avec amidon coloré par le Lugol.
Fig. 52. — Cellule de *Mnium undulatum* montrant des chapelets de granulations lipidiques.
Fig. 53 à 57. — Evolution des cellules foliaires de *Sphagnum*

Légende : Chl. = chlorocyste,
hya. = hyalocyste,
p. = pores,
1-1 = sens du 1er cloisonnement,
2-2 = sens du 2e cloisonnement.

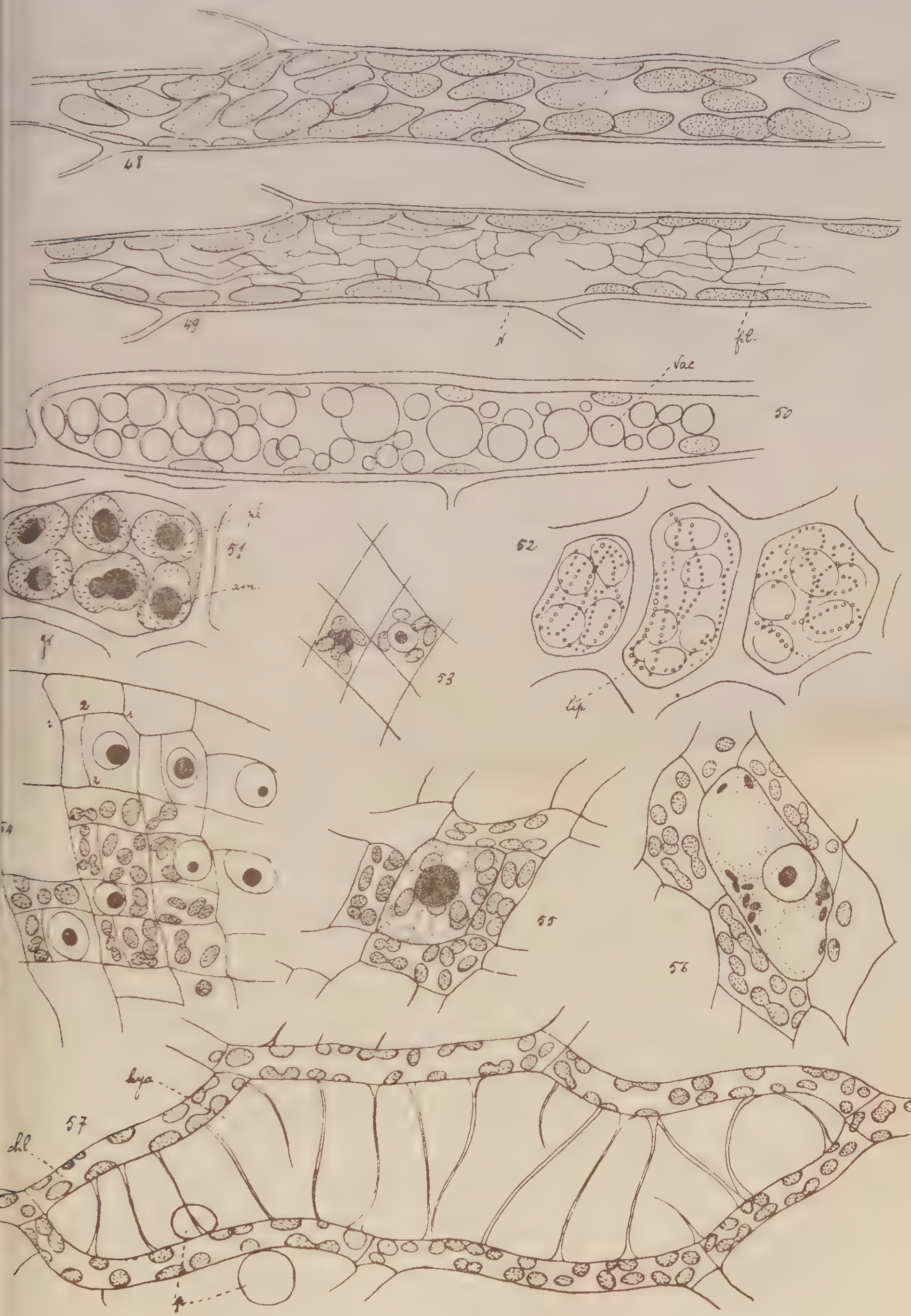

48
49
N
fl.
vac
50
51
ni
zon.
52
53
lip
54
2
1
55
56
57
hya
chl
p

PLANCHE XIV

Fig. 58. — Paraphyse de *Funaria* in vivo.
Fig. 59. — Paraphyse de *Mnium punctatum.*
Fig. 60 à 63. — Poils foliaires de *Polytrichum formosum.*
Fig. 64-65-66. — Archégones de *Barbula intermedia* d'âges différents.

Légende : M. = mitoplastes,
cos = oosphère,
c. v. c. = cellule ventre du canal.



N
60
61
N
trab. cyt.
59
62
N.
63
c.v.c
n
oos
66
64
65
oos

PLANCHE XV

Fig. 67. — Oosphère et cellules voisines de *Barbula intermedia* (fix. Regaud).

Fig. 68. — Archégone de *Barbula* observé vitalement.

Fig. 69. — Oosphère et cellule ventre du canal (fix. Nawa).

Fig. 70 et 71. — Sommet de l'archégone de *Barbula* en vue superficielle (70) et profonde (71).

Fig. 72. — Sommet de l'archégone de *Barbula* coloré vitalement après ouverture du canal.

Fig. 73. — Coloration vitale du suçoir de l'archégone.

Fig. 74. — Stade de fécondation d'une oosphère de *Barbula* (fix. Nawa).

Fig. 75. — Oosphère et cellule ventre du canal d'un archégone de *Polytrichum formosum* (Obs. vit.).

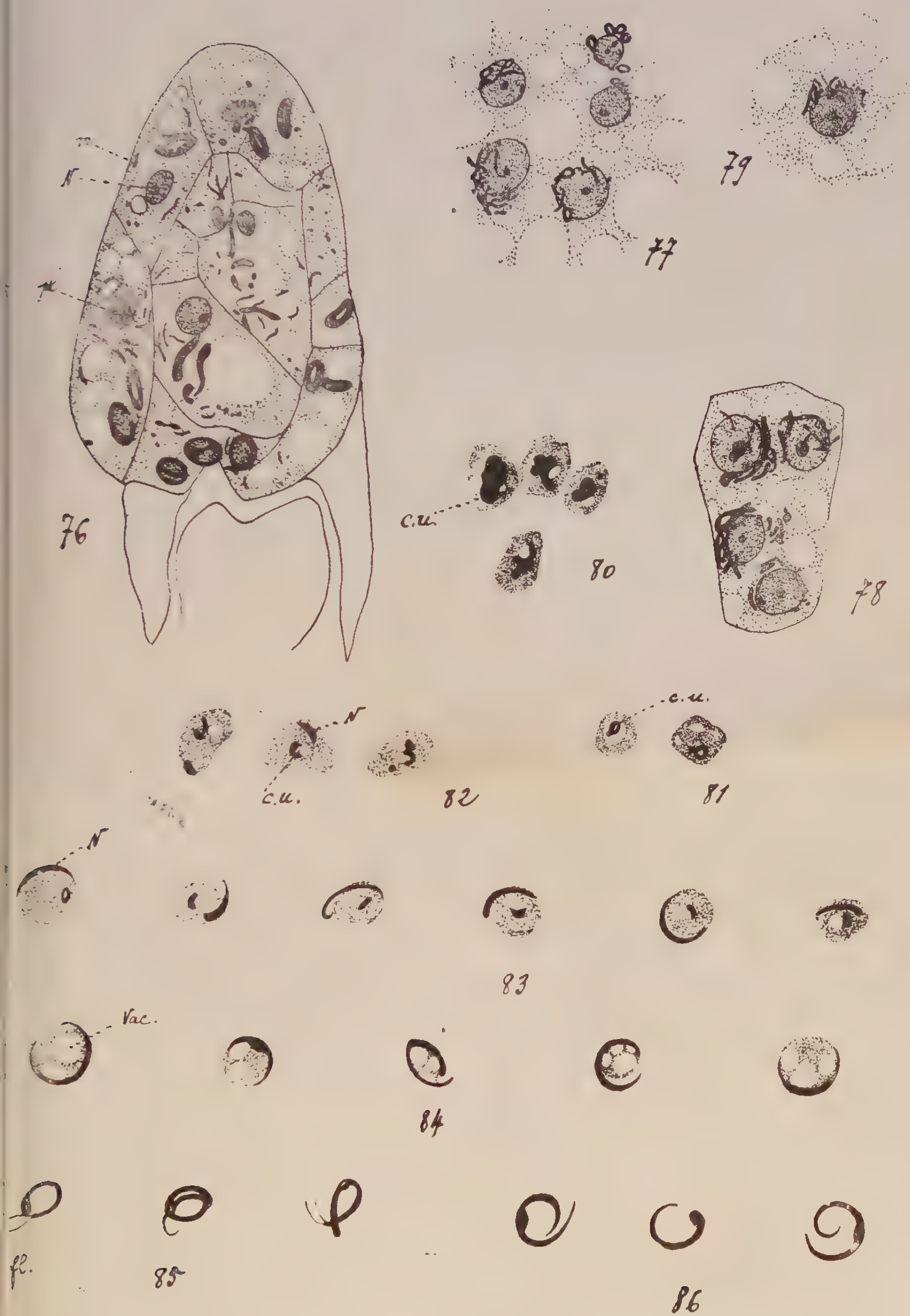
Légende : cell. du c. = cellule du canal.
sp. = spermatozoïde.


c.v.c.
oos.
69
68
Vac.
71
72
c.v.c.
N
oos
oos
74
Vac
73

PLANCHE XVI

Fig. 76. — Coupe longitudinale d'une jeune anthéridie (fix. Regaud).
Fig. 77-78-79-80. — Stades successifs de tassement des éléments cytoplasmiques (fix. Regaud).
Fig. 81. — Stade de non colorabilité du noyau (fix. Regaud).
Fig. 82. — Réapparition du noyau coloré (fix. Regaud).
Fig. 83. — Evolution de la spermatide.
Fig. 84. — Vacuolisation de la spermatide et décollement du noyau.
Fig. 85. — Spermatozoïdes mûrs avec flagelles (fix. Nawa).
Fig. 86. — Spermatozoïdes mûrs (fix. Regaud).

Légende : c. u. = corps unique,
fl. = flagelles.



N
76
77
79
78
c.u.
80
82
81
83
Vac.
84
fl.
85
86

TABLE DES MATIÈRES

Sur la présence du *Compsonema gracile* Kuckuck sur la côte des Landes à Mimizan

par Pierre DANGEARD

Le genre *Compsonema* a été créé en 1899 (1) par Kuckuck pour une Phéosporée vivant à Rovigno dans l'Adriatique à une profondeur de 1-2 mètres et formant sur les pierres un revêtement ou des coussinets bruns. Ce genre peut être considéré comme appartenant à la famille des Myrionémacées et les principaux caractères distinctifs sont la présence de filaments assimilateurs nombreux et simples, monosiphonés, s'élevant d'une couche basale monostromatique et entremêlés de longs poils. Chaque cellule renferme un chromatophore unique en plaque irrégulièrement lobée. Les sporanges pluriloculaires, les seuls décrits, sont allongés, siliquiformes, sessiles ou pédicellés. Enfin un caractère bien particulier est fourni par la nature des parois cellulaires externes qui sont épaisses, stratifiées et souvent divisées en couches successives entourant les filaments comme des entonnoirs emboîtés les uns dans les autres. Les poils présentent à leur base une enveloppe caliciforme, de sorte qu'ils peuvent être dits endogènes comme le sont ceux des Myrionémacées, disposition que Sauvageau, fit connaître pour la première fois comme étant caractéristique de ce groupe des Phéosporées.

Le *Compsonema gracile* existerait aux îles Canaries, d'après Börgesen (1926) : la petite plante trouvée par l'algologue danois correspond en effet assez bien à la description et

(1) Kuckuck P., Compsonema, ein neues Genus der Phacosporeen. *Beitr. zur Keuntr. d. Meeresalgen*, p. 90, 1899.

aux figures données par KUCKUCK ; cependant on note certaines différences et, par exemple, les filaments assimilateurs sont assez souvent ramifiés dans l'algue des Canaries (1), tandis que l'algue de Méditerranée a été décrite comme ayant des filaments simples.

Une autre particularité est l'absence chez l'algue canarienne d'un disque véritable formé d'une couche cellulaire unique, car les filaments dressés semblent provenir de filaments couchés et rampants, libres en quelque sorte entre eux. Le caractère de la membrane stratifiée ne paraît pas non plus avoir la même importance dans la plante décrite par BÖRGESEN et dans celle figurée par KUCKUCK.

Dernièrement, J. FELDMANN a rattaché, avec quelque doute, au genre *Compsonema*, sous le nom de *C. Liagorae* une petite Myrionématacée récoltée à Banyuls (formant des coussinets irréguliers, brunâtres et de consistance muqueuse, ressemblant à ceux que forme, sur le même hôte, le *Strepsithalia Liagorae* Sauv.) (2).

L'année dernière, le 26 septembre, nous avons trouvé à Mimizan-Plage, sur la côte landaise, au débouché de l'Océan, du courant venant de l'étang d'Aureilhan, des sortes de coussinets bruns fixés sur les pieux qui protègent la rive gauche de la rivière dans sa traversée du cordon des dunes littorales. Cette algue, malgré sa station à l'entrée d'un courant d'eau douce, est cependant presque purement marine étant donné qu'elle évite le contact de l'eau douce pendant une grande partie du jusant, puisqu'elle est émergée, et qu'au retour du flot elle se trouve baignée d'eau de mer presque sans mélange d'eau douce. La croûte brune se détache facilement du support formé de bois plus ou moins pourri ; elle rappelle par son aspect, mais non par sa couleur, le *Rhodocorton Rothii*, lequel vit d'ailleurs dans le voisinage immédiat. L'étude des filaments qui se

(1) BÖRGESEN F., *Marine Algae from the Canary Islande*, II, p. 59, 1926.

(2) FELDMANN J., *Algues marines de la côte des Albères*, I-III, p. 119, 1937.

dissocient facilement nous a permis de penser que nous étions en présence du *Compsonema gracile* décrit par Kuckuck, néanmoins, comme la bibliographie citée plus haut a montré qu'il y avait certaines divergences entre la description originale et celle de Börgesen, nous croyons utile de préciser les caractères de nos échantillons.

Tout d'abord la plante de Mimizan a, dans l'ensemble, tous les caractères si bien représentés dans la figure 8 de la pl. VI du mémoire de Kuckuck. Cependant les filaments assimilateurs, dans cette figure, ont en moyenne 1/2 mm. de longueur, comme il résulte du grossissement mentionné, tandis que la diagnose indique pour la longueur de ces filaments environ 1 mm., ce qui correspond mieux à ce que nous observons dans nos échantillons. Les membranes cellulaires externes sont épaisses, montrant plusieurs couches, lesquelles sont parfois emboîtées les unes dans les autres ; nous avons noté des épaississements aussi marqués que ceux figurés par Kuckuck, mais généralement isolés (fig. *f*) ; ces sortes de manchons sont dus à une particularité de l'accroissement en longueur des filaments : ceux-ci subissent périodiquement une rénovation qui laisse à la base du segment nouveau, les restes de l'ancienne membrane, sous forme d'une collerette plus ou moins épaisse. Ce phénomène pouvant se reproduire plusieurs fois au cours de la croissance, on obtient la production de sortes de gaines, non pas rapprochées, mais isolées ou éloignées les unes des autres. Ces sortes d'enveloppes de la membrane peuvent aussi s'observer à la base d'un sporange. Elles semblent différentes des gaines formées par la paroi d'anciens sporanges qui ont proliféré soit un nouveau sporange, soit un filament. Enfin de longs poils incolores naissant à la base d'un filament assimilateur sont pourvus d'une gaine caliciforme qui rappelle un peu l'enveloppe vidée d'un sporange (fig. *g*), mais qui s'en distingue par l'absence des restes de cloisons transversales.

La manière dont est constituée la base des coussinets

présente naturellement un certain intérêt, au point de vue de la place systématique à donner au genre *Compsonema*. Le fait qu'à Mimizan le *Compsonema* vit fixé sur des pieux de bois tendre, semble faciliter *à priori* l'étude de la base de fixation. Cependant en détachant l'algue on entraîne fréquemment une portion du support, ce qui nuit à l'examen. Il apparaît que la région basale n'est pas un disque véritable monostromatique, mais plutôt, comme l'indique Börgesen, un ensemble de filaments irréguliers rampants, plus ou moins indépendants et libres entre eux. Ces filaments de base sont constitués par des cellules irrégulières assez grosses et généralement isodiamétriques, à membranes stratifiées particulièrement épaisses (fig. *d*). Il s'en élève des filaments verticalement dressés qui peuvent rester simples, mais qui, le plus souvent, se ramifient immédiatement ; ils sont dans cette région basale très intriqués et comme collés ensemble au moyen de leurs membranes colorées en brun ; il en résulte que la dissociation facile des filaments est obtenue dans presque toute leur longueur, sauf à leur base où ils sont comme soudés ensemble et plus difficilement séparables ; cependant il n'existe pas dans cette région ce que l'on pourrait appeler un pseudo-parenchyme.

Les filaments assimilateurs contiennent habituellement, dans chacune de leurs cellules, un plaste brun unique en forme de plaque pariétale lobée (fig. *c*), mais nous avons noté que certains filaments ont des plastes multiples par cellule.

Les sporanges pluriloculaires peuvent être terminaux, mais le plus souvent ils sont latéraux à l'extrémité de courtes branches recourbées parallèlement au filament principal, ou bien encore ils sont complètement sessiles. Leur forme est ordinairement très allongée, en siliques, et, après leur déhiscence, leur membrane persiste longtemps pendant que le filament prolifère à leur intérieur (fig. *c*).

Si l'on analyse les caractères de l'algue de Mimizan, on conclut évidemment à son identité avec le *Compsonema*

gracile Kuckuck. Par contre, elle ne correspond pas à l'algue de Banyuls décrite par Feldmann. Ce serait donc la première fois que le *C. gracile* serait rencontré en France. Comme il s'agit d'une algue rare il n'était pas inutile de confirmer pour la plus grande part la diagnose établie à l'origine. Cependant l'absence d'un disque régulier formé par des filaments soudés l'éloigne des ***Myrionema***.

PLANCHE XVII

a, deux filaments de *Compsonema gracile* Kuckuck avec deux sporanges pluriloculaires ; *b*, filament rampant et filaments dressés dont l'un porte deux sporanges latéraux ; *c*, filament avec cellules pourvues chacune d'un phéoplaste : *d*, disposition des filaments dressés par rapport aux filaments rampants à membrane épaissie ; *e*, base de filaments soudés entre eux dans leur région inférieure et ramifiés à la partie supérieure ; *f*, filament rajeuni ayant à sa base une collerette formée par la membrane épaissie ; *g*, poil endogène à gaine basale caliciforme.

Fig. *a*, *b*, *e* × 200 : Fig. *c*, *d*, *f*, *g* × 400.


a
b
e
g
d
f
c

BIBLIOGRAPHIE

DANGEARD Pierre. — **CYTOLOGIE VÉGÉTALE ET CYTOLOGIE GÉNÉRALE**, 611 p., 248 fig., Paul Lechevalier, Editeur, Paris, 1947.

L'importance de la cytologie est reconnue par tous les biologistes contemporains. Beaucoup de problèmes biologiques sont en effet avant tout des problèmes cellulaires. C'est pourquoi la publication d'un ouvrage consacré à la cytologie végétale et à la cytologie générale ne peut manquer d'attirer l'attention. D'autre part, il n'existe en langue française aucun ouvrage récent, exposant les progrès de la cytologie d'une manière générale. Ces progrès encore peu connus en France, ont porté principalement sur la structure et les propriétés physicochimiques de la matière vivante, sur la structure et les propriétés du noyau et des chromosomes, sur les relations entre la cytologie et la génétique, sur la constitution et le rôle du chondriome et de l'appareil de Golgi, sur la structure et le rôle des couches limitantes du protoplasme et des membranes cellulaires.

Après une introduction et des généralités sur la cellule, le livre est divisé en 15 chapitres dont voici l'énumération : Chap. I : Le Protoplasme ; Chap. II : Les mitochondries et les plastes ; Chap. III : L'évolution des plastes et des chondriosomes ; Chap. IV : Le noyau cellulaire ; Chap. V : La mitose ou caryocinèse ; Chap. VI : Le stock chromosomique diploïde et la structure des chromosomes ; Chap. VII : Les noyaux chez les organismes inférieurs et l'organisation cellulaire atypique ; Chap. VIII : L'appareil centrosomien et la cinétide ; Chap. IX : La Méiose ou réduction chromatique ; Chap. X : Cytogénétique ; Chap. XI : les chromosomes sexuels ; Chap. XII : La vacuome ou appareil vacuolaire ; Chap. XIII : L'appareil de Golgi ; Chap. XIV : Les produits du métabolisme et le paraplasme ; Chap. XV : La membrane d'enveloppe des cellules végétales.

Tout en réservant aux travaux anciens les plus importants la part qui leur revient, l'auteur s'est attaché surtout à analyser les travaux les plus récents et à donner une idée de l'état actuel des problèmes cytologiques. Le lecteur pourra facilement se reporter aux sources s'il le désire, en utilisant une bibliographie importante et détaillée, groupée à la fin de chaque chapitre ou ensemble de chapitres.

Il semble que l'ouvrage soit appelé à rendre des services non seulement aux Botanistes auxquels il s'adresse plus spécialement mais encore à tous ceux qu'intéresse la Biologie générale. Il constituera pour certains une introduction aux problèmes qui les occupent et pour d'autres une source indispensable de références.

TABLE GÉNÉRALE DES MATIÈRES
DE LA SÉRIE XXXII DU BOTANISTE.

Pages

Le Gérant : P. DANGEARD.

524. — Imprimerie Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris (N° 31.0939). — 12-1947

